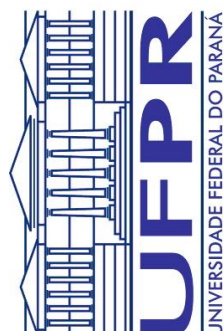


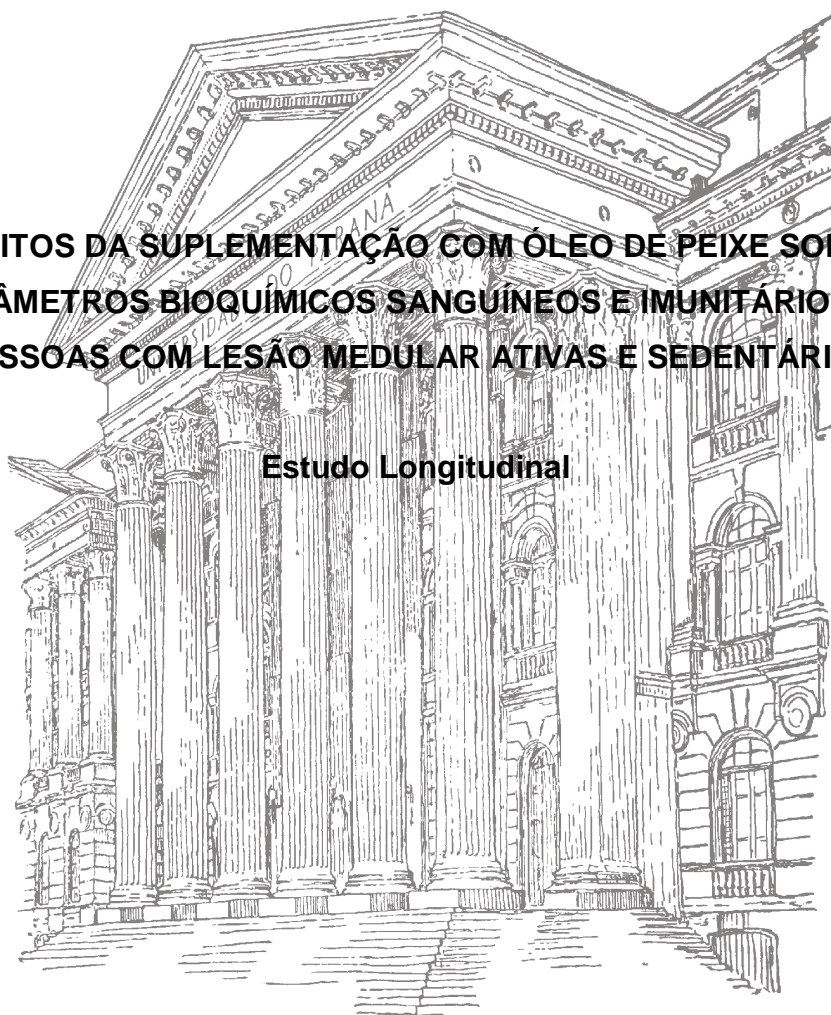
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA



ALDRE IZABEL PCHEVOZNIKI TANHOFFER

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE SOBRE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGÜÍNEOS E IMUNITÁRIOS EM
PESSOAS COM LESÃO MEDULAR ATIVAS E SEDENTÁRIAS**

Estudo Longitudinal



CURITIBA

2016

ALDRE IZABEL PCHEVOZNIKI TANHOFFER

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE SOBRE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS E IMUNITÁRIOS EM
PESSOAS COM LESÃO MEDULAR ATIVAS E SEDENTÁRIAS**

Estudo Longitudinal

**Tese apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Doutor em
Educação Física do Programa de Pós-
Graduação em Educação Física, do Setor
de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Paraná.**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes

Co-Orientação: Profa. Dra. Katya Naliwaiko

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Tanhoffer, Aldre Izabel Pchevozniki

Efeitos da suplementação com óleo de peixe sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos e imunitários em pessoas com lesão medular ativas e sedentárias. / Aldre Izabel Pchevozniki Tanhoffer. – Curitiba, 2016. 228 f.: il. ; 30cm.

Orientador: Luiz Cláudio Fernandes

Co-orientadora: Katya Naliwaiko

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

1. Oleo de peixe. 2. Citocinas. 3. Medula espinhal. I. Título II. Fernandes, Luiz Claudio. III. Naliwaiko, Katya. IV Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

CDD (20. ed.) 613.2



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Educação Física

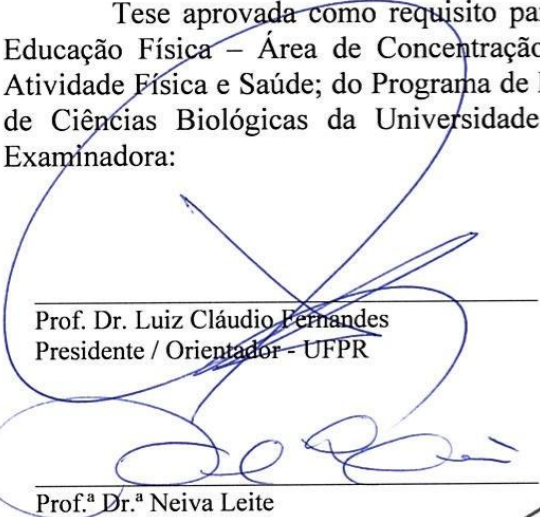


TERMO DE APROVAÇÃO

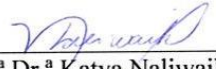
ALDRE IZABEL PCHEVOZNIKI TANHOFFER

“Efeitos da suplementação com óleo de peixe sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos e imunitários em pessoas com lesão medular ativas e sedentárias. Estudo Longitudinal”

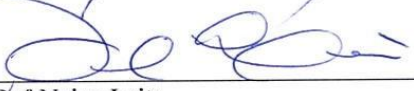
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Educação Física – Área de Concentração: Exercício e Esporte; Linha de Pesquisa: Atividade Física e Saúde; do Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:



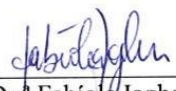
Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes
Presidente / Orientador - UFPR



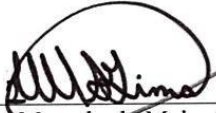
Prof.ª Dr.ª Katya Naliwaiko
Coorientadora




Prof.ª Dr.ª Neiva Leite
Membro Interno



Prof.ª Dr.ª Fabíola Iagher
Membro Externo



Prof. Dr. Marcelo de Meira Santos Lima
Membro Externo



Prof. Dr. Sandro José Ribeiro Bonatto
Membro Externo

Curitiba, 20 de Junho de 2016.

Dedico esta tese à minha família.

Em especial aos meus pais, por terem me ensinado que um dos bens mais valiosos que podemos ter é o conhecimento, principalmente quando podemos usá-lo para um objetivo maior.

A minha sogra Dona Genila, por ter me acolhido como filha em sua vida.

Ao Ricardo por estar sempre a meu lado, principalmente quando mais precisei.

AGRADECIMENTOS

O reconhecimento de que esta tese não teria se tornado realidade sem a ajuda de inúmeras pessoas mostra realmente que ciência não se faz só. Este trabalho é a prova real disto, inúmeros profissionais e pesquisadores se uniram a mim com o único intuito de me ajudar a concretizar esta pesquisa. E a estas horas de conversas, explicações, empréstimos de materiais, equipamentos e expertises serei eternamente grata.

Ao Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes e a Prof. Dra. Katya Naliwaiko minha eterna dívida apoio e voto de confiança. A generosidade de vocês em dividir comigo tanto conhecimento fez com que estes anos fossem de muito aprendizado.

Ao Dr. Ricardo Tanhoffer meu muito obrigada pelo auxílio no decorrer de todo o trabalho, seu conhecimento sobre o tema foi essencial para transpormos as dificuldades encontradas.

A Prof. Dra. Márcia Appel minha gratidão pela prestatividade e proatividade em tudo o que necessitei.

A Prof. Dra. Fabiola Iagher e as suas alunas de PVA Simone Abe, Patricia e Anameu muito obrigada pela ajuda nas coletas.

A Mariana Boia serei eternamente grata, pelas inúmeras vezes que estava pronta e sorridente para as coletas de sangue em plena 7 horas da manhã. A sua ajuda foi essencial!

A Prof. Dra. Aline B. Hauser e ao Prof. Dr. Railson Henneberg meus agradecimentos pelo auxílio nas análises de sangue e urina.

A Prof. Dra. Neiva Leite meu agradecimento pelo empréstimo do espirômetro e ao Dr. Heros Ferreira pelo empréstimo do eletromiógrafo e ergômetro.

Ao grupo do LabMetab meu muito obrigada por tudo, sem vocês os dias seriam muito mais complicados e monótonos. As dezenas de horas que vocês me cederam durante as coletas de dados e análises me ajudaram a encurtar muitos dos caminhos tortuosos durante estes anos. Vocês são demais!

A equipe da Fio Cruz meu agradecimento pela análise das citocinas.

A empresa Naturalis Nutrição & Farma Ltda pela doação das cápsulas de Óleo de Peixe.

Aos professores da Pós-Graduação de Educação Física pelos conhecimentos compartilhados nas aulas e pelo trabalho administrativo para o bom andamento das pesquisas, e em especial ao secretário da Rodrigo Waki pelo profissionalismo e cordialidade com que me auxiliou durante estes anos.

A Fundação Coordenação Aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de estudo durante estes quatro anos de doutoramento.

E finalmente meu agradecimento aos voluntários, sem eles nada disto teria se tornado realidade.

RESUMO

Lesão medular (LM) é considerada uma das mais graves e complexas patologias em seres humanos, pois pode causar paralisia e perda de sensibilidade correspondente ao nível neurológico comprometido e imediatamente abaixo, além de sérias disfunções do sistema nervoso autonômico. Tanto a paralisia de grande parte da musculatura como o comprometimento do sistema nervoso simpático e parassimpático devido ao trauma raquimedular, induzem os indivíduos a um dos menores níveis de atividade física (AF) dentre todas populações especiais. Por outro lado, a aplicação de exercícios físicos exerce importante papel na composição corporal, metabolismo de glicose e lipídeos e marcadores inflamatórios dessa população. Além disto, apesar da importante influência da suplementação com óleo de peixe (OP) na saúde geral de um indivíduo, já demonstrada em hígidos e em diferentes patologias, poucos são os estudos que tenham observado suas ações sobre pessoas com lesão medular. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito da AF e da suplementação alimentar com cápsula de OP na saúde geral do indivíduo após LM, para tanto, os efeitos do nível de aptidão física sobre os parâmetros bioquímicos, imunitário e neuromuscular dos indivíduos com LM e hígidos pareados foram investigados e comparados. A *posteriore*, o efeito da suplementação com OP em parâmetros bioquímicos e imunitário foi verificada. Participaram deste estudo 32 indivíduos do gênero masculino, entre 18 e 53 anos de idade, sendo 11 paraplégicos e 11 tetraplégicos com mais de 1 ano de lesão, além de 10 hígidos pareados. Foram realizadas mensurações antropométricas, parâmetros hematológicos, bioquímicos e de citocinas pró- e anti-inflamatórias, pré- e pós suplementação com 2 gramas/dia de OP por 90 dias, avaliação da produção de torque do músculo bíceps braquial, nível de ativação voluntária e atividade elétrica durante contração isométrica voluntária máxima (CIVM) e protocolo de fadiga. Não foram verificadas alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos entre os grupos. As diferenças entre os parâmetros neuromusculares em LM e hígidos não foram estatisticamente significativas no membro superior direito, porém, foram significativamente reduzidos no membro superior esquerdo, tanto intra grupos quanto entre LM e hígidos. A suplementação com OP não causou alterações nos parâmetros hematológicos e nem bioquímicos, somente as citocinas apresentaram alterações porém seguiram um padrão relacionado a aptidão física. A compreensão dos processos fisiopatológicos que acometem indivíduos com LM, assim como um melhor entendimento da ação OP e dos níveis de AF podem direcionar estratégias para aumento da qualidade de vida e longevidade de uma população ainda a margem de conhecimentos específicos voltados à sua saúde e bem estar.

Palavras-chave: lesão medular, óleo de peixe, parâmetros hematológicos, parâmetros bioquímicos, citocinas, torque muscular

ABSTRACT

Spinal cord injury (SCI) is considered one of the most severe pathologies, leading to muscle paralysis and lack of sensibility as well as severe autonomic system dysfunction. Both paralysis and autonomic system dysfunction owing to SCI, causes the lowest level of physical activity (PA) among all special population. On the other hand, PA plays an important role in body composition, glucose and lipid metabolism, and inflammatory markers in this population. Besides, although the fish oil (FO) supplementation influence on the individual general health, already demonstrated in both, able-bodied and people with different pathologies, there are a few studies on the FO effects in people with SCI. Therefore, the objective of this study was to verify the PA and FO supplementation effects, on the SCI individual general health. To do this, fitness level on the biochemical, immunity and neuromuscular parameters of this population were investigated and compared to matched able-bodied individuals. Afterwards, the effect of FO supplementation on the immune and biochemical parameters was studied. In total, 32 male individuals, aged between 18 – 53 years old, being 11 paraplegics, 11 tetraplegics (both groups with at least one year post-injury) and 10 able-bodied individual, matched for age and year. Anthropometric measures, blood, biochemical and pro- and anti-inflammatory cytokines, both pre- and post-supplementation with 2g/day of FO were assessed. In addition, biceps muscle torque, electrical level during maximal voluntary isometric contraction and fatigue protocol. There were no alterations in the blood and biochemical between groups. There was no statistical difference between SCI and Able-bodied for the right arm in the neuromuscular parameters, however, they were statistically significantly reduced for the left arm in both between groups and SCI vs Able-bodied individuals. FO supplementation did not present alteration in the blood and biochemical profiles. Only cytokines showed alteration, following a pattern related to PA. The better understanding of physiological process, the role of FO and the levels of PA that undertake SCI individuals, might contribute to enhance quality of life and longevity for a still marginal population.

Key-words: spinal cord injury, fish oil, cytokines, blood profile, muscle torque

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Sobrevida em lesados medulares considerada após um ano de lesão medular.....	31
FIGURA 2	Delineamento do Recrutamento.....	51
FIGURA 3	Diagrama do protocolo do estudo.....	54
FIGURA 4	Esquematização do procedimento realizado no D1.....	63
FIGURA 5	Esquematização do procedimento realizado no D2.....	65
FIGURA 6	Representação gráfica dos miótomos e segmentos motores testados para a obtenção da classificação neurológica e ASIA.....	67
FIGURA 7	Representação gráfica dos procedimentos realizados para coleta e análise sanguínea.....	69
FIGURA 8	Resultado do recrutamento.....	78
FIGURA 9	Análise etiológica das LM.....	82
FIGURA 10	Análise do nível de atividade física dos indivíduos de acordo com os critérios seguidos pelo <i>American College of Sport and Medicine</i> (ACSM) e descritos no estudo de Donnelly et al.(Donnelly <i>et al.</i> , 2009).....	83
FIGURA 11	Representação gráfica dos dados antropométricos avaliados com relação ao nível de atividade física (A.F.). Os participantes foram distribuídos em grupo Fisicamente Ativo (FA) e sedentário (SED).....	84
FIGURA 12	Esquematização do procedimento realizado no D3.....	101
FIGURA 13	Posicionamento de eletrodos para EMG.....	106
FIGURA 14	Medida do sinal eletromiográfico retificado em repouso.....	109
FIGURA 15	Medidas avaliadas na dinamometria do músculo bíceps braquial bilateralmente.....	110
FIGURA 16	Tempo de ativação do músculo para início da contração e desativação do músculo até o retorno ao estado de repouso.....	111
FIGURA 17	Produção de força por contração isométrica máxima voluntária (CIVM) do músculo Bíceps Braquial.....	115
FIGURA 18	Percentual de queda de produção de força após 25 CIVM de 5s de duração e 2 seg de repouso.....	119
FIGURA 19	Eritrograma para os três grupos especificamente: hígidos (N=10), paraplégicos (N=11) e tetraplégicos (N=11), nos tempos T0 (antes da suplementação) e T3 (pós suplementação).....	141
FIGURA 20	Leucograma para os três grupos especificamente: hígidos (N=10), paraplégicos (N=11) e tetraplégicos (N=11), nos tempos T0 (antes da suplementação) e T3 (pós suplementação).....	142

FIGURA 21	Plaquetas para os três grupos especificamente: hígidos (N=10), paraplégicos (N=11) e tetraplégicos (N=11), nos tempos T0 (antes da suplementação) e T3 (pós suplementação).....	143
FIGURA 22	Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígidos (N=10), Paraplégicos (N=11) e Tetraplégicos (N=11) para a citocina pró inflamatória IL-2, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe.	145
FIGURA 23	Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para IL-4, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe.....	146
FIGURA 24	Comparação de T0 e T3, entre os grupos Paraplégico (N=11), Hígido (N=10), e Tetraplégico (N=11) para a IL-6, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe.....	147
FIGURA 25	Comparação de T0 e T3, entre os grupos Paraplégico (N=11) Hígido (N=10), e Tetraplégico (N=11) para IL-10, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe.....	148
FIGURA 26	Comparação de T0 e T3 entre os grupos Hígidos (N=10), Paraplégicos (N=11) e Tetraplégicos (N=11) para a citocina pró inflamatória TNF- α em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe.....	149
FIGURA 27	Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para INF- γ em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe.....	150

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Média dos gastos com manutenção da saúde e despesas relacionadas com LM de acordo com a severidade da lesão.....	30
TABELA 2	Nomenclatura utilizada para o armazenamento do plasma e soro dos participantes do estudo.....	71
TABELA 3	Índice de Classificação Massa Corporal.....	77
TABELA 4	Parâmetros epidemiológicos dos participantes hígidos e lesados medulares (LM) incluídos no Estudo 1. Os participantes foram divididos em sedentários (SED) e fisicamente ativos (FA) quanto ao nível de Atividade Física.....	80
TABELA 5	Parâmetros antropométricos dos participantes hígidos e lesados medulares (LM) incluídos no Estudo 1.....	84
TABELA 6	Relação entre os parâmetros antropométricos dos participantes separados em hígidos, paraplégicos e tetraplégicos.....	87
TABELA 7	Resultado da análise do Eritrograma.....	87
TABELA 8	Resultado de contagem de plaquetas.....	88
TABELA 9	Resultado da análise do Leucograma.....	88
TABELA 10	Resultado da análise dos parâmetros bioquímicos.....	89
TABELA 11	Medida da circunferência do músculo Bíceps Braquial.....	108
TABELA 12	Análise descritiva da força do início e término da contração isométrica voluntária máxima CIVM.....	113
TABELA 13	Análise descritiva dos valores da Média da Força e do Pico de força da melhor CIVM.....	114
TABELA 14	Análise descritiva do Torque.....	116
TABELA 15	Análise descritiva do Pico de Ativação Elétrica.....	118
TABELA 16	Nomenclatura utilizada para armazenamento de amostras.....	138
TABELA 17	Citocinas pró (IL-2, IL-6, INF- γ e TNF- α) e antiinflamatórias (IL-4, IL-10). Valores de T3 expressos como porcentagem de T0.....	144
TABELA 18	Concentração de Ácidos Graxos (%) nas amostras de plasma coletadas antes do início da suplementação com OP (T0) e ao final de três meses (T3). Os participantes foram separados nos grupos Hígidos, Paraplégico e Tetraplégicos.....	152
TABELA 19	Índice de Insaturação Pré e Pós suplementação com Óleo de Peixe por 90 dias.....	153
TABELA 20	Razão n-6/n-3 das amostras Pré e Pós suplementação com Óleo de Peixe por 90 dias de cada indivíduo suplementado.....	155
TABELA 21	Lipidograma Pré e Pós suplementação com Óleo de Peixe por 90 dias para a média de cada grupo.....	156

LISTA DE ABREVIATURAS

AB	atenção básica
ACSM	American College of Sports Medicine
ADM	amplitude de movimento
AF	atividade física
AG	ácido graxo
AGL	ácidos graxos livres
AGPI	ácidos graxos poliinsaturados
AHA	Associação Americana do Coração
AIDS	síndrome da imunodeficiência adquirida
AL	ácido graxo essencial linoléico
ALA	ácido graxo essencial α -Linolênico
ALT	alanina transaminase
ANOVA	análise de variância
ASIA	Associação Americana de LM
AST	aspartato transaminase
ASTm	área de secção transversa muscular
AVD	atividade de vida diária
CAR	central activation ratio
CBA	cytometric bead array
CHCM	concentração de hemoglobina corpuscular média
CIVM	contração isométrica voluntária máxima
CK	creatina quinase
cm	centímetros
COX	cicloxigenase
DC	doenças cardiovasculares
DCNT	doenças crônicas não transmissíveis

DHA	ácido docosaexaenóico
DP	desvio padrão
EENM	eletroestimulação neuromuscular
EMG	eletromiografia
EPA	ácido eicosapentaenóico
FA	fisicamente ativo
FAF	ferimentos por arma de fogo
HCM	hemoglobobina corpuscular média
HDL	high density lipoprotein
HPLC	high performance liquid chromatography
HT - UFPR	Hospital do Trabalhador da Universidade Federal do Paraná
iEMG	área sob a curva ou sinal integrado
IFN- γ	interferon gama
IL	interleucina
IMC	índice de massa corporal
kg	quilograma
kg/m ²	quilograma por metro quadrado
kgf	quilograma força
LDL	low density lipoprotein
LHS	enzima lipase hormônio-sensível
LOX	lipoxigenase
MMII	membros inferiores
MMSS	membros superiores
MSD	membro superior direito
MSE	membro superior esquerdo
n-3	ômega-3
n-6	ômega-6
N.m	newtons por minuto
OMS	Organização Mundial da Saúde

OP	óleo de peixe
PCR	proteína C reativa
r	correlação de Pearson
RCQ	relação cintura/quadril
RDW	índice de variação de tamanho de células vermelhas
RMS	sinal eletromiográfico retificado
SED	sedentário
seg	segundos
SNA	sistema nervoso autonômico
SNC	sistema nervoso central
SNP	sistema nervoso periférico
SUS	sistema único de saúde
TAB	tecido adiposo branco
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TGIH	triglicerídeos intra-hepático
TNF- α	fator- α de necrose tumoral
VCM	volume corpuscular médio
VHS	velocidade de hemossedimentação
WHO	World Health Organization
μ V	milivolts

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Objetivo Geral	22
1.2	Objetivos Específicos.....	22
1.3	Hipóteses.....	23
1.4	Estruturação da tese	23
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	27
2.1	Epidemiologia	28
2.2	Fisiopatologia da LM	31
2.2.1	Paralisia da musculatura abaixo do nível da lesão.....	33
2.2.2	Alterações nas propriedades de condução do estímulo nervoso.....	35
2.2.3	Alterações na composição corporal	36
2.2.4	Incontinência e infecções de repetição do trato urinário.....	38
2.3	Atividade Física.....	41
2.4	Ácidos graxos	44
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.1	Recrutamento.....	50
3.2	Desenho Experimental	53
4.	ANTROPOMETRIA E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE INDIVÍDUOS COM LM EM CURITIBA E REGIÃO METROPOLITANA	58
4.1	INTRODUÇÃO	58
4.1.1	Objetivo geral	60
4.1.2	Objetivos específicos	60
4.1.3	Hipóteses.....	61
4.2	MÉTODOS.....	62
4.2.1	Participantes do estudo.....	62
4.2.2	Procedimentos gerais.....	62
4.2.3	Avaliações	65
4.2.3.1	Análise Sociodemográfica.....	65
4.2.3.2	Classificação neurológica da LM - ASIA	66
4.2.3.3	Caracterização da amostra quanto ao nível de AF	67
4.2.3.4	Coleta e análise de sangue.....	68
4.2.3.5	Medidas Antropométricas	74
4.2.4	Análise estatística	77
4.3	RESULTADOS	78
4.4	DISCUSSÃO	90
4.5	CONCLUSÃO.....	93
5.	AVALIAÇÃO DO SISTEMA NEUROMUSCULAR E OSTEOARTICULAR DE INDIVÍDUOS COM LM EM CURITIBA E REGIÃO METROPOLITANA.....	95

5.1	INTRODUÇÃO	95
5.1.1	Objetivo geral	98
5.1.2	Objetivos específicos	98
5.1.3	Hipóteses	99
5.2	MÉTODOS.....	100
5.2.1	Participantes do estudo.....	100
5.2.2	Procedimentos gerais.....	100
5.2.3	Avaliações	102
5.2.3.1	Avaliação de integridade osteoarticular	102
5.2.3.2	Avaliação de parâmetros relacionados à força e torque	102
5.2.3.3	Avaliação da atividade elétrica muscular	103
5.2.3.4	Avaliação da ativação voluntária muscular.....	103
5.2.3.5	Protocolo.....	104
5.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	107
5.4	RESULTADOS	108
5.5	DISCUSSÃO	120
5.6	CONCLUSÃO.....	127
6.	EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM OP	129
6.1	INTRODUÇÃO	129
6.1.1	Objetivo geral	134
6.1.2	Objetivos específicos	134
6.1.3	Hipóteses	135
6.2	MÉTODOS.....	136
6.2.1	Participantes do estudo.....	136
6.2.2	Procedimentos gerais.....	136
6.2.3	Avaliações	137
6.2.3.1	Determinação do perfil de ácidos graxos	138
6.2.3.2	Análise de citocinas	139
6.2.4	Análise estatística	140
6.3	RESULTADOS	141
6.3.1	Hemograma	141
6.3.2	Leucograma.....	142
6.3.3	Plaquetas	143
6.3.4	Citocinas.....	144
6.3.5	Concentração de Ácidos Graxos no Plasma.....	151
6.4	DISCUSSÃO	157
6.5	CONCLUSÃO.....	169
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	171

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	174
APÊNDICE	206
ANEXOS	217

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Lesão da medula espinhal produz interrupção de estímulo neural através do canal medular tendo como principal consequência perda das funções do sistema nervoso somático e autonômico (Ditunno *et al.*, 1994). Esta patologia é considerada uma condição de saúde crônica, que pelas limitações funcionais relacionadas ao nível e a extensão da lesão na medula fazem com que a pessoa acometida não esteja apta a realizar funções de atividade de vida diária (AVD) bem como atividade física (AF) da mesma forma que realizavam antes da lesão. Esta adaptação na funcionalidade e reestruturação de hábitos de vida tem forte influência de fatores como nível educacional, econômico, social e familiar (Ackery *et al.*, 2004; Norton, 2010).

Evidências científicas demonstram que a saúde do lesado medular está diretamente correlacionada à quão bem ele está adaptado a sua nova condição motora (domínios pessoais e ambientais), sendo que quanto mais alto o nível e maior o comprometimento do sistema nervoso autonômico (SNA), menor é a qualidade de vida destes indivíduos (Kirshblum *et al.*; Gittler *et al.*, 2002; Cardenas, Hoffman, *et al.*, 2004).

Em relação à etiologia, a lesão medular (LM) é dividida em lesões não traumáticas e traumáticas, sendo que indivíduos com LM traumática levam em média três vezes mais tempo para se reabilitar devido às complicações ortopédicas extras adquiridas no momento da injúria. O maior número de incidências de LM é causado por trauma, reflexo do aumento de acidentes automobilísticos e da crescente violência nos grandes centros urbanos e países subdesenvolvidos, (Koch, 1976; Carter, 1977; Koch A *et al.*, 2007; Campos *et al.*, 2008; Gupta *et al.*, 2009).

Além de todos os aspectos sociais e ambientais, estudos evidenciaram que a paralisia de grande parte da musculatura e consequente redução de funcionalidade e mobilidade, como o comprometimento do SNA devido ao trauma raquimedular,

induzem essa população a um dos mais baixos níveis de AF dentre as populações especiais (Elder *et al.*, 2004; Alexander, 2008; Alexander *et al.*, 2009).

Além da inatividade física, estudos verificaram que outro componente importante para a manutenção do estado de saúde é a dieta que em indivíduos acometidos por LM está consideravelmente abaixo das recomendações nutricionais de ingestão de macro e micronutrientes para a população adulta, demonstrando que esta população tem alimentação deficitária, tanto em qualidade quanto em quantidade (Walters *et al.*, 2009). Fatores inerentes à LM *per se* contribuem de maneira significativa nesse processo, que é a ‘ocidentalização’ da dieta, em que maiores níveis de alimentos com gorduras saturadas são consumidos em detrimento daqueles ricos em ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), especialmente os da família ômega-3(n-3). Vários estudos demonstram os benefícios e importância da ingestão de AGPI de maneira regular na dieta, entretanto, a maioria desses estudos foram conduzidos em indivíduos hígidos ou com outras patologias e poucos são os estudos que observaram suas ações sobre a população com LM (Tapiero *et al.*, 2002; Javierre *et al.*, 2005; Yehuda *et al.*, 2005; Javierre, Vidal, Segura, Lizarraga, Medina, Ventura, *et al.*, 2006; Dyll e Michael-Titus, 2008b; Yamazaki *et al.*, 2011).

A associação destes fatores (inatividade física e dieta inadequada) direcionam à uma série de patologias secundárias que se encaixam no perfil das patologias conhecidas como ‘Doenças Crônicas Não Transmissíveis’ (DCNT), como a síndrome metabólica, problemas cardiovasculares, disfunção imunitária, quadros severos de osteoporose entre outros (Buchholz *et al.*, 2003a; Bauman e Spungen, 2008; De Groot *et al.*, 2008; Edwards *et al.*, 2008), as quais são potencializadas pela fisiopatologia da LM, reduzindo drasticamente a qualidade de vida e longevidade desses indivíduos e consequentemente onerando o sistema de saúde (França I S *et al.*, 2011).

De fato, segundo o Ministério da Saúde, as DCNT são responsáveis por 72% das causas de morte no Brasil e de 75% dos gastos com atenção à saúde no Sistema Único de Saúde (SUS). Tendo em vista que os indivíduos com LM tem maior susceptibilidade em desenvolver DCNT, em 2012 o Ministério da Saúde, por meio da Secretaria de Atenção à Saúde - Departamento de Ações Programáticas

Estratégicas lançou a cartilha intitulada *Diretrizes de Atenção à Pessoa com Lesão Medular*. Esta cartilha tem a intenção primordial de enfatizar a importância do atendimento dos indivíduos com LM no âmbito de Atenção Básica (AB), e não somente de reabilitação, justificando que a AB é uma organização através das redes de atenção à saúde que tem por objetivo a integração de ações e serviços de saúde com provisão de atenção contínua, integral e de qualidade, a qual poderá prevenir o aparecimento das DCNT e assim melhorar a qualidade de vida destes indivíduos (Saúde, 2012). Estas diretrizes demonstram a magnitude das complicações provindas da LM, que justificam a importância de se trabalhar interdisciplinarmente e preventivamente com esta população (Buchalla, 2003).

Portanto, sabendo da importância do papel dos exercícios físicos na composição corporal (Martin *et al.*, 1993; Hunter *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2003; Manns *et al.*, 2005; Inukai *et al.*, 2006), metabolismo de glicose e lipídeos (Manns *et al.*, 2005; Inukai *et al.*, 2006; De Groot *et al.*, 2008; Mojtahedi *et al.*, 2008), entre outros aspectos da saúde geral de um indivíduo, e considerando que as pessoas com LM são extremamente sedentárias (Manns *et al.*, 2005), e em adição que essa população – por diversos fatores – está aquém de uma dieta saudável, e que portanto a suplementação com AGPI n-3 vem sendo utilizada como estratégia para a manutenção da saúde geral e poucos são os estudos que observaram suas ações sobre a população com LM, a pesquisa em questão visou investigar o efeito de diferentes níveis de AF e da suplementação alimentar com cápsula de óleo de peixe (OP) sobre a função dos sistemas imunitário, metabólico e neuromuscular de indivíduos com LM.

1.1 Objetivo Geral

Este estudo objetivou investigar o efeito do nível de AF e da suplementação alimentar com cápsula de OP na saúde geral do indivíduo após LM, principalmente sobre a alta incidência de DCNT nessa população. Para tanto, os efeitos da prática de atividade física, realizada à priori do estudo, sobre parâmetros bioquímicos e imunitários, metabólico e neuromuscular de indivíduos com LM e hígidos pareados foram investigados e comparados, bem como o efeito da suplementação com OP em parâmetros bioquímicos e função do sistema imunitário.

1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a relação entre o nível de AF e o nível/severidade da LM.
- Determinar se existem diferenças nos parâmetros bioquímicos plasmáticos relacionando-os com nível/severidade da LM, nível de AF, além de comparar estes parâmetros com os encontrados no grupo de indivíduos hígidos.
- Determinar se existem diferenças nos parâmetros imunitários relacionando-os com nível/severidade da LM, nível de AF, além de comparar estes parâmetros com os encontrados no grupo de indivíduos hígidos.
- Verificar a capacidade de produção de força (pico e taxa de desenvolvimento de torque) e os parâmetros de recrutamento muscular (ativação muscular e fadiga) em lesados medulares e hígidos.
- Verificar os efeitos do nível de AF e da suplementação alimentar com cápsula de OP, bem como a associação dos mesmos sobre os parâmetros sanguíneos e marcadores inflamatórios.

1.3 Hipóteses

Para atingir o objetivo central do estudo, as hipóteses a seguir foram testadas:

- H1. O nível de AF estará relacionado ao nível e severidade da LM.
- H2. Os parâmetros bioquímicos plasmáticos apresentarão correlação com nível e severidade da LM, nível de AF, e apresentarão maiores alterações com relação aos padrões normais quando comparados aos encontrados no grupo dos hígidos.
- H3. Os parâmetros imunitários apresentarão correlação direta com nível e severidade da LM, nível de AF, e apresentarão maiores alterações com relação aos padrões normais quando comparados aos encontrados no grupo dos hígidos.
- H4. A capacidade de produção de força será menor e os parâmetros de recrutamento muscular serão piores (ativação muscular menor e fadiga mais rápida) em lesados medulares com nível de LM alto (comprometimento de musculatura de tronco e/ou MMSS) quando comparados aos LM com níveis de lesão baixos e aos hígidos.
- H5. A suplementação alimentar com cápsula de OP, alterará os parâmetros sanguíneos e marcadores inflamatórios de forma positiva.
- H6. Os efeitos do nível de AF e da suplementação alimentar com cápsula de OP, bem como a associação destes serão positivos sobre os parâmetros sanguíneos e marcadores inflamatórios.

1.4 Estruturação da tese

As pesquisas descritas nesta tese visaram analisar a influência da LM nos parâmetros bioquímicos e sistema imunitário, metabólico e neuromuscular, bem como verificar se o nível de AF de alguma forma estava relacionado ao estado dos sistemas fisiológicos investigados. Além disto a proposta de intervenção com suplementação com OP foi implementada para verificar o impacto na saúde geral do

indivíduo com LM. Para tanto, as perguntas a serem respondidas em cada sistema fisiológico geraram diferentes propostas de avaliação, sendo que para melhor aproveitamento dos dados e maior profundidade de investigação, optou-se por apresentar os diferentes estudos como capítulos distintos.

A apresentação do problema central deste projeto está descrita no **Capítulo 1 – Introdução**, onde o objetivo geral, os objetivos específicos e as hipóteses geradas estão descritas.

No **Capítulo 2** encontra-se a **Revisão de Literatura**. Esta apresenta uma visão geral sobre LM, AF e suplementação de OP, englobando os principais aspectos de cada assunto e correlacionando estes 3 tópicos.

O **Capítulo 3 – Materiais e Métodos**, descreve o processo de recrutamento dos indivíduos bem como o desenho experimental geral formulado para a pesquisa, sendo que nos capítulos referentes à cada estudo, serão descritos os materiais e métodos especificamente utilizados.

Os próximos capítulos foram estruturados de forma que cada estudo tivesse uma breve justificativa que fundamentasse o assunto analisado, bem como os objetivos geral e específicos, os materiais e métodos empregados, os resultados encontrados, e assim, finalizando com a discussão e conclusão.

Portanto, o **Capítulo 4 - Estudo 1** trata da análise da saúde geral dos participantes (lesados medulares e hígidos), para tanto foram utilizadas análises de parâmetros sanguíneos, parâmetros antropométricos, níveis de LM e de AF.

O **Capítulo 5 - Estudo 2** analisou a força muscular gerada pelo músculo bíceps braquial, bem como a capacidade de ativação muscular dos participantes com LM e dos participantes hígidos pareados. Todas as análises necessárias para avaliar diferenças em força muscular e capacidade de ativação muscular foram realizadas individualmente e bilateralmente, sendo comparadas entre os grupos de diferentes níveis de LM e hígidos pareados.

O **Capítulo 6 - Estudo 3** - analisou a ação da suplementação com OPnos parâmetros bioquímicos e citocinas, além de verificar se houve correlação destes parâmetros com a concentração de EPA e DHA no plasma dos participantes suplementados.

Por fim, o**Capítulo 7 - Discussão** - discutiu as relações entre os estudos, além de discutir as hipóteses que tinham sido elaboradas no início do projeto. Finalmente, futuras recomendações e direções para a continuidade destas pesquisas foram descritas.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

Em 1862, o egiptologista Edwin Smith comprou um papiro datado de 2500 A.C. descoberto em uma catacumba de 3000 anos no Egito. Este papiro, traduzido por James Henry Breasted em 1930 tratava-se de uma compilação de 48 casos patológicos, os quais eram descritos com uma breve introdução, descrição dos principais sintomas, diagnóstico, e por fim o tratamento recomendado. Destes 48 casos clínicos seis são descrições de lesões medulares, sendo que o que mais chamou atenção dos estudiosos além da riqueza de detalhes na descrição da patologia foi que na seção sobre tratamento recomendado lia-se “uma condição médica que não pode ser tratada” (Van Middendorp *et al.*, 2010).

Pode-se imaginar que uma lesão que resulta em síndrome neurológica altamente incapacitante que compromete as principais funções motoras, sensitivas e autonômicas levando a inabilidade permanente, devia ser considerada naquela época como algo que estava além dos conhecimentos e recursos necessários para a “cura”, o que se comprova pelos relatos encontrados que diziam que “*a morte seria o melhor dos remédios para este mal que afligia a família*” (Van Middendorp *et al.*, 2010; Kim, 2013). Corroborando com os achados acima mencionados, não encontram-se relatos de indivíduos que tenham permanecido vivos por muito tempo após uma lesão medular, o que pode ser facilmente explicado se um paralelo com os dias de hoje for feito, pois apesar de todos os avanços conquistados nas áreas de terapia intensiva, medicina e farmacologia ainda tem-se uma grande porcentagem de óbitos que ocorrem até o primeiro mês de lesão por intercorrências respiratórias e septicemias (Devivo *et al.*, 1999; Garshick E *et al.*, 2005; Strauss *et al.*, 2006). Infelizmente, por mais que as pesquisas em modelos experimentais e humanos estejam sendo desenvolvidas de forma muito intensa e responsável, ainda temos vários pontos obscuros nesta patologia, desde como diminuir a intensidade e a velocidade com que a cascata de acontecimentos logo após a injúria da medula ocorre, a definição de melhores procedimentos terapêuticos para impedir a grave e intensa necrose e apoptose que ocorre no sítio da lesão (Sekhon e Fehlings, 2001; Yu *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2005), até qual é a melhor forma de se reabilitar um indivíduo com LM (Anema *et al.*, 2007; Harvey, L., 2008; Harvey *et al.*, 2011), qual a quantidade de exercícios necessários para a melhora e manutenção da saúde

(Bauman e Spungen, 2001a; 2008; Aziz *et al.*, 2009; Bassett e Martin Ginis, 2009) e como a nutrição deste indivíduo influenciará de maneira positiva ou negativa nas comorbidades de uma pessoa com LM (Bauman e Spungen, 2001a; Buchholz e Bugaresti, 2005; Chen *et al.*, 2006; Perret e Stoffel-Kurt, 2011).

Sabendo-se que os assuntos que serão abordados nesta revisão de literatura são vastos e tem certas especificidades, que giram em torno da população que está sendo estudada, foram escolhidos os tópicos de forma que bom embasamento fosse dado aos pontos que serão tratados na pesquisa. Vale ressaltar que o afunilamento dos temas não diminui a importância do que não será comentado.

2.1 Epidemiologia

Epidemiologicamente, nos Estados Unidos, a cada ano ocorrem 11.000 casos de LM, e no Brasil estima-se que anualmente surjam aproximadamente 9.000 novos casos (Koch, 1976; Ackery *et al.*, 2004; Koch A *et al.*, 2007; Norton, 2010). Interessantemente, alguns números sobre LM seguem certa tendência mundial, mostrando que cerca de 80% dos indivíduos são homens, na faixa etária de 16 a 30 anos ($\pm 51,6\%$), em que 65% dos casos tem comprometimento neurológico incompleto e aproximadamente 50% das lesões são tetraplegias (Kirshblum *et al.*; McKinley *et al.*, 2006). Estudo realizado em hospital público da região de São Paulo, registrou 100 casos de LM em 2007, com predomínio etário de 20 a 40 anos em 64% dos casos; sexo masculino em 86%; sendo o segmento toracolumbar o mais comumente atingido com 64% dos casos e 36% para o segmento cervical. As principais causas foram quedas em 40%, seguidas de acidentes automobilísticos em 25% e quedas da laje 23%. A prevalência de ferimentos por arma de fogo (FAF) foi de 7%, mergulho em águas rasas 3% e agressões 2%. Outro estudo desenvolvido por Koch *et al.* (2007), analisou retrospectivamente, os protocolos de fraturas vertebrais em pacientes atendidos no Pronto-Socorro e Ambulatório de Lesões Traumáticas da Coluna Vertebral do Hospital do Trabalhador da Universidade Federal do Paraná (HT - UFPR) em Curitiba, no período de janeiro de 1999 a janeiro de 2004. O mecanismo de lesão mais frequente foi o acidente por queda com

50,4%, seguido por acidentes de trânsito com 25,5% e lesões por FAF com 9,76%, totalizando 502 casos de LM (Koch A *et al.*, 2007). Outro estudo realizado na região nordeste do Brasil demonstrou a prevalência de acidentes automobilísticos seguido por FAF como principais causas de LM, sendo que o segmento mais acometido foi o cervical (48,3%), seguido do torácico (25,8%) e lombar (25,8%). A maior incidência de lesão foi encontrada em homens, na faixa etária de 21 a 30 anos, e o tempo de hospitalização após a LM foi em média de 23 dias (Pereira C e Jesus R, 2011).

Estudo de coorte prospectivo de base populacional, relatou que em 1996, nos EUA, os gastos por paciente com LM era de quase 200.000 dólares durante os primeiros dois anos após a lesão, quando incluídos o atendimento domiciliar, serviços médicos e complicações secundárias (Johnson RI *et al.*, 1996). Recente pesquisa feita pelo Centro Nacional de Estatística em LM, da Universidade de Alabama, reportou que a média dos gastos com cuidados relacionados à saúde e despesas ligadas à LM e suas complicações secundárias está diretamente relacionado à severidade da lesão. Outros fatores apontados como moduladores destes gastos são nível de escolaridade e histórico de trabalho pré-lesão. Os dados da tabela 1 reportam os gastos com indivíduo com LM, que por sua vez foram arcados pelo governo ou pelos órgãos privados de seguro médico. O levantamento foi finalizado em fevereiro de 2012 (Tabela 1) (Cao Y *et al.*, 2011; Devivo M J *et al.*, 2011; Center, 2012). Portanto, os pacientes com LM constituem gasto monetário adicional para o sistema de saúde, não só na fase de tratamentos agudos, mas também nos primeiros anos seguintes ao trauma. Dados oficiais à respeito dos gastos com hospitalização, serviços médicos de rotina e tratamento de complicações secundárias à LM no Brasil não foram encontrados, mas estima-se seguir números encontrados em outros países, devido à similaridade de procedimentos para tratamento dessa população, em nível mundial.

TABELA1 Média dos gastos com manutenção da saúde e despesas relacionadas com LM de acordo com a severidade da lesão.

Severidade da Lesão Medular	Média das despesas anuais (em dólar americano)		Estimativa do custo de vida de acordo com a idade em que ocorreu a lesão	
	Primeiro ano	Anos subsequentes	aos 25 anos	aos 50 anos
Tetraplegia alta (C1-C4) AIS A-B-C	\$1,023,924	\$177,808	\$4,543,182	\$2,496,856
Tetraplegia baixa (C5-C8) AIS A-B-C	\$739,874	\$109,077	\$3,319,533	\$2,041,809
Paraplegia AIS A-B-C	\$499,023	\$66,106	\$2,221,596	\$1,457,967
Lesão motora incompleta a qualquer nível AIS D	\$334,170	\$40,589	\$1,517,806	\$1,071,309

As melhorias conquistadas na medicina e na farmacologia com o passar dos anos, fizeram com que a sobrevida dos indivíduos com LM aumentasse, porém, esta ainda permanece aquém à da população em geral, como verificado na pesquisa desenvolvida por Groah et al, visualizada na figura 1(Groah *et al.*, 2012). Este aumento da sobrevida dos indivíduos com LM, apesar de ser considerado ganho, não corresponde a aumento da qualidade de vida.

Teoricamente, qualidade de vida de uma pessoa é determinada pela sua percepção de inserção em diversos contextos como social, ambiental, familiar e econômico, a partir do valor que esta pessoa dá a cada um destes tópicos, dos seus objetivos de vida e preocupações pessoais (Westgren e Levi, 1998; Krause, J. S. *et al.*, 2009).

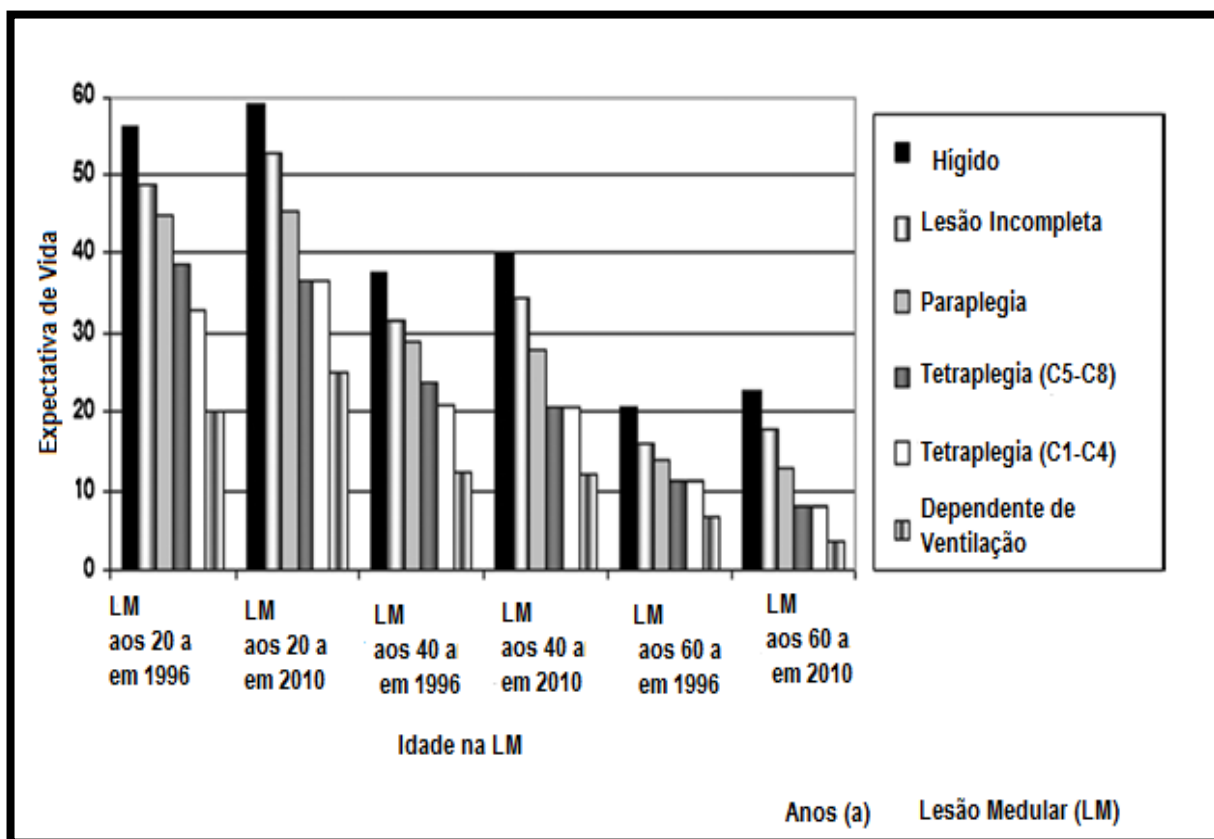


FIGURA 1 Sobrevida em lesados medulares considerada após um ano de lesão medular. (figura reproduzida do artigo Groah et al, 2012).

Quando a qualidade de vida é mensurada em lesados medulares, as duas principais características que são mencionadas pelos indivíduos são a funcionalidade e saúde. Verificou-se que a satisfação com a vida está diretamente correlacionada a estes dois fatores, sendo que quanto maior a funcionalidade e melhor a saúde, menores são as queixas pessoais, sociais e ambientais (Bach *et al.*; Bergmark *et al.*, 2008; Krause, J. S. *et al.*, 2009).

2.2 Fisiopatologia da LM

A LM pode ser classificada quanto à severidade e quanto ao nível neurológico da lesão. A severidade diz respeito à área tecidual comprometida, e divide-se em lesão completa e incompleta. LM completa é caracterizada quando ocorre interrupção total das vias neuronais, tanto aferentes quanto eferentes abaixo do nível da lesão da medula, tendo como característica principal a perda total de função

motora e sensitiva. Por outro lado, LM incompleta é quando a injúria na medula é parcial, tendo como característica a presença de algum grau de função motora e/ou sensitiva abaixo do nível da lesão (Ditunno *et al.*, 1994; Maynard *et al.*, 1997). A força muscular, e função sensitiva remanescentes abaixo do nível da LM são avaliadas por testes específicos, que classificam o grau de comprometimento neurológico do indivíduo.

Esta classificação utilizada mundialmente e conhecida como Padrões Internacionais de Classificação Neurológica da LM, foi desenvolvida pela Associação Americana de LM (ASIA) (Ditunno *et al.*, 1994; Maynard *et al.*, 1997; Cohen *et al.*, 1998), e classifica os indivíduos lesados medulares em:

- ASIA A = Lesão Completa: Nenhuma função motora ou sensorial preservada nos segmentos sacrais.
- ASIA B = Lesão Incompleta: Apresenta função sensorial, mas nenhuma função motora está preservada abaixo do nível neurológico e inclui o segmento S4-S5.
- ASIA C = Lesão Incompleta: Função motora é preservada abaixo do nível neurológico, e mais da metade dos músculos-chave abaixo do nível neurológico possuem grau de força inferior a 3 (considerando a escala de prova de função muscular manual entre 0 e 5).
- ASIA D = Lesão Incompleta: Função motora é preservada abaixo do nível de neurológico, e mais da metade dos músculos-chave abaixo do nível neurológico possuem grau de força igual ou superior a 3.
- ASIA E = Normal: Funções motoras e sensoriais estão normais.

E quanto ao nível, a LM pode ser dividida em tetraplegia e paraplegia. Ainda, tetraplegia subdivide-se em alta (lesão nível cervical – C1/C4), e tetraplegia baixa (lesão nível cervical – C5/C8). Da mesma forma, encontram-se as subdivisões de paraplegia alta (lesão nível torácico – T1/T6) e paraplegia baixa (lesão nível T6 abaixo) (Maynard *et al.*, 1997). O nível e a severidade da LM influenciam nas variações dos sintomas e no aumento da incapacidade, o que pode ser diretamente relacionado as mudanças fisiológicas decorrentes da LM e das complicações

secundárias relacionadas. Devido ao alto grau de comprometimento neurológico, o que pode acarretar alterações no funcionamento dos sistemas metabólico, endócrino, urinário, cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, entre outros, pode haver aumento na incidência de doenças secundárias à esta patologia (aparecimento das DCNT além de complicações secundárias específicas da LM), tornando-se assim, a manutenção e recuperação da saúde onerosa ao indivíduo, família e cofres públicos (Horn *et al.*, 1998; Mckinley *et al.*, 2007). Outro fator relevante na LM é a perda da função motora, que se apresenta em diferentes graus, também dependendo do nível e severidade da lesão da coluna vertebral (Carter, 1977; Mckinley *et al.*, 1999; Mckinley *et al.*, 2007).

Estas sequelas físicas e fisiológicas, na maioria das vezes, ainda causam transtornos psicológicos interferindo na vida pessoal, familiar e social do indivíduo (Deroon-Cassini *et al.*, 2009; Krause, J. S. *et al.*, 2009). Algumas das principais sequelas provenientes da LM, e suas complicações secundárias estão descritas abaixo:

2.2.1 Paralisia da musculatura abaixo do nível da lesão

A paralisia do músculo esquelético, devido a lesão do motoneurônio superior, acarreta em mudanças metabólicas, morfológicas e nas propriedades contráteis (Grimby *et al.*, 1976; Burnham *et al.*, 1997; Castro *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2000; Gorgey e Dudley, 2007). Devido a estas mudanças, o músculo paralisado sofre imediata e severa hipotrofia (Castro *et al.*, 1999; Modlesky *et al.*, 2004; Gorgey e Dudley, 2007). Entre as mudanças que ocorrem na musculatura esquelética após a LM, a mais marcante é a alteração das características musculares. Em estudos histológicos demonstrou-se que as moléculas de miosina de cadeia pesada tipo I (MCPI), comuns em musculaturas neurologicamente intactas, após a LM diminuem em quantidade, sendo gradualmente substituídas por outros tipos de fibras, devido ao aumento na expressão das proteínas contráteis rápidas (MCP tipo IIa e IIx) (Grimby *et al.*, 1976; Round *et al.*, 1993; Burnham *et al.*, 1997) e dando característica mais fatigável à musculatura abaixo da LM (Grimby *et al.*, 1976;

Cramer *et al.*, 2000). Em adição, a estas alterações nas propriedades contráteis das fibras, ocorre diminuição da área de secção transversa muscular (ASTm). Relatou-se em um estudo, que a ASTm em um grupo de indivíduos com 6 semanas de LM, diagnosticada como completa era 45% menor em relação a um grupo hígido utilizado como controle (Castro *et al.*, 1999). Ainda, outro estudo demonstrou que em indivíduos acometidos por LM incompleta (6 semanas) a ASTm era 33% menor quando comparada à de hígidos ajustados pelo peso e idade (Gorgey e Dudley, 2007).

Além desta perda significativa de massa magra nos membros acometidos pela interrupção do estímulo nervoso e consequente incapacidade de contração muscular, estudocrossecional realizado por Spungen *et al* em 2006 verificou que quando comparados paraplégicos, tetraplégicos e hígidos pareados os grupos com LM apresentaram perda significativa de massa magra tanto regional (membros superiores, membros inferiores e tronco) quanto total, sendo que esta perda não teve diferença significativa entre os níveis de LM. Quando analisada entre indivíduos com LM e hígidos a perda de massa magra foi mais pronunciada em membros superiores e membros inferiores do que em tronco. Quando o fator envelhecimento foi correlacionado à diminuição de massa magra observou-se que os lesados medulares tiveram perdas estatisticamente maiores que os hígidos pareados por idade. Além disto, verificou-se que enquanto os hígidos perdiam 1% de massa magra total por década, os lesados medulares perdiam aproximadamente 3,2% (Spungen *Am et al.*, 1993; Spungen *et al.*, 2003).

Mesmo tendo resultados concretos sobre a perda de massa magra total em indivíduos com LM, deve-se ressaltar que a atribuição deste fato à LM é tênue, sabendo que fatores genéticos e ambientais podem influenciar este processo. Portanto, para verificar se a perda de massa magra total está realmente relacionada à LM, o grupo de pesquisa de Spungen, em 2000, realizou pesquisa com gêmeos monozigotos em que um deles era lesado medular. Dentre os achados, verificou-se que os lesados medulares quando comparados aos irmãos tiveram em média perda de 4kg de massa magra total em 5 anos de paralisia (Spungen *Am et al.*, 1993; Spungen *et al.*, 2003). Levando em conta que o gasto energético basal está diretamente relacionado a quantidade de massa magra, e que este é o tecido que

mais demanda energia,concluiu-se que, quanto maior a perda de massa magra menor é o gasto energético basal(Jacobs *et al.*, 2004; Cowan e Nash, 2010). Um maior aprofundamento sobre este assunto de diminuição de gasto energético basal será dado no tópico de alterações na composição corporal após LM.

Outras pesquisas também correlacionaram o aparecimento de acúmulo de tecido adiposo intramuscular(Chen *et al.*, 2006; Gorgey e Dudley, 2007; Hamer e Stamatakis, 2009), intolerância à glicose, resistência à insulina e aparecimento tardio de diabetes tipo II (Gordon e Mao, 1994; Bauman e Spungen, 2001a; b), alteração da competência imunitária, em parte pela inatividade e redução do aminoácido glutamina no tecido muscular (Campagnolo *et al.*, 2000; Tanhoffer *et al.*, 2007; Campagnolo *et al.*, 2008), em consequência da hipotrofia muscular e alteração morfológica e funcional desse tecido. Deve-se salientar que esta diminuição funcional, na maioria das vezes representada pela necessidade de utilização da cadeira de rodas para locomoção e incapacidade de realizar a contração dos grandes grupos musculares do corpo humano reduz muito os níveis de AF ficando aquém dos níveis descritos como ideais para a manutenção da saúde geral (Elder *et al.*, 2004).

2.2.2 Alterações nas propriedades de condução do estímulo nervoso

Os achados à respeito das intercorrências que ocorrem após a falta de estímulo nervoso para os músculos abaixo da LM ainda são poucos e inespecíficos.

Alterações nas propriedades de condução do estímulo nervoso, podem ocorrer devido a interrupção total ou parcial da comunicação entre sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP). A falta da contração adequada da fibra muscular pode agravar a já comprometida velocidade de condução das unidades motoras correspondentes as suas fibras musculares (Harvey, Lisa, 2008; Singhal *et al.*, 2008). Em caso de lesões medulares incompletas as alterações na condução nervosa, podem postergar e dificultar o processo reabilitativo (Mange *et al.*, 1990; Marino *et al.*, 1999), e em lesados medulares completos, restringe a

qualidade dos ganhos musculares com a utilização de terapias assistivas como eletroestimulação neuromuscular (EENM) que atualmente é uma das estratégias reabilitativas e de treinamento que vem sendo usada para ganho de funcionalidade e melhora de performance em caso de atletas (Ragnarsson, 1988; 2008).

2.2.3 Alterações na composição corporal

Perret e Stoffel-Kurt (2011) verificaram que a dieta nutricional de indivíduos acometidos por LM, independente do nível neurológico da lesão, está consideravelmente abaixo das recomendações nutricionais de ingestão de macro e micronutrientes para a população adulta, o que também foi ressaltado em outros estudos (Pickelsimer *et al.*; Chen *et al.*, 2006; Perret e Stoffel-Kurt, 2011), e esse fator se dá principalmente pelos hábitos alimentares contemporâneos, ou seja, utilização principalmente de comidas industrializadas de baixo valor nutricional, porém de fácil manipulação e praticidade na hora do preparo – o que se transforma em agente facilitador durante as tarefas do dia-a-dia para pessoas com mobilidade reduzida, como é o caso de indivíduos com LM (Pickelsimer *et al.*; Chen *et al.*, 2006; Perret e Stoffel-Kurt, 2011). Em adição à alimentação não balanceada, pessoas com LM normalmente reduzem drasticamente os níveis de atividade física. Balanço calórico positivo (atividade reduzida e ingestão alimentar aumentada e incorreta), direciona para acúmulo de estoque energético, com consequente hipertrofia adipocitária e acúmulo deste tecido na região abdominal/visceral (Buchholz *et al.*, 2003a; Spungen *et al.*, 2003).

De fato, o tecido adiposo está ganhando entendimento ao longo das décadas e portanto, agora sabe-se quão complexo e metabolicamente importante este tecido é para o corpo humano, estando envolvido, por exemplo, no metabolismo energético, funções neuroendócrina e imunitária (Kershaw e Flier, 2004; Bays, 2009). Este aumento de adiposidade visceral geralmente resulta em disfunção desse tecido e liberação excessiva de ácidos graxos livres (AGL). Este aumento de AGL circulante pode ser distribuído para alguns órgãos de nosso organismo, como fígado e músculo esquelético, causando acúmulo de gordura ectópica (Bays *et al.*, 2004;

Karelis *et al.*, 2004). No fígado, a inabilidade de oxidar AGL pode direcionar para aumento de triglicerídeos intra-hepático (TGIH), contribuindo para estado de resistência à insulina, dislipidemias e acréscimo na síntese de interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR), que são fortemente relacionadas com doenças cardiovasculares (Castro *et al.*, 1999; Bauman e Spungen, 2008), devido a ação pró-inflamatória dessas estruturas moleculares. Disfunção similar pode ocorrer no tecido muscular esquelético, onde o excesso de AG dentro dos miócitos direcionam a síntese e acúmulo de lipídeos intramiocelular como ceramida e diacilglicerol, que são correlacionadas com resistência à insulina (Buchholz *et al.*, 2003b; Karelis *et al.*, 2004; Buchholz e Bugaresti, 2005). Portanto, adiposidade excessiva pode promover algumas das doenças metabólicas mais comuns, incluindo resistência à insulina, hiperglicemia, dislipidemia, hipertensão e estados protrombóticos e inflamatórios severos (Buchholz *et al.*, 2003b; Jones *et al.*, 2003; Bays *et al.*, 2004; Karelis *et al.*, 2004). De fato, recentes evidências demonstram que as principais doenças metabólicas, como resistência à insulina, diabetes e doenças cardiovasculares, são causadas por processo inflamatório crônico, lento e gradual, devido a liberação de adipocinas pró-inflamatórias (citocinas específicas sintetizadas à partir do tecido adiposo), mesmo em indivíduos com ligeiro sobrepeso (Karelis *et al.*, 2004; Bays *et al.*, 2007), que são processos patológicos com altíssima taxa de incidência encontrados em indivíduos com LM, muito provavelmente devido a alteração da composição corporal encontrada nessas pessoas (Bauman *et al.*, 2004; Bergmark *et al.*, 2008; Bassett e Martin Ginis, 2009; Deroon-Cassini *et al.*, 2009).

Interessantemente, apesar de haver procedimentos para diagnóstico de doenças cardiovasculares (DC) bem consolidados em pesquisas baseadas em evidências e em técnicas diagnósticas preditoras de riscos associados à DC, uma grande porcentagem de indivíduos que apresentam problemas cardiovasculares como aterosclerose progredindo para doenças coronarianas tem os preditores de risco como peso, níveis lipídicos, pressão arterial e nível de AF predito dentro dos níveis considerados de normalidade (Bauman e Spungen, 1994; 2001b; Bauman *et al.*, 2004; Bauman e Spungen, 2008; Cowan *et al.*, 2009; Cowan e Nash, 2010).

Portanto, o papel do tecido adiposo como agente causador de estado inflamatório crônico e potencial fator de risco de doenças cardiovasculares em pessoas com LM deve ser investigado.

Pesquisadores da área tem como consenso que a melhor estratégia para que estas alterações na composição corporal e alterações metabólicas sejam diminuídas, seria a integração da diminuição da ingestão calórica e o aumento do gasto energético diário. Porém, apesar desta estratégia parecer acertiva, existem alguns fatores que interferem na sua eficácia, dentre eles a não efetividade de dieta balanceada e a interferência da diminuição da massa magra e da disfunção adrenérgica no aumento do gasto energético pelo exercício (Bauman e Spungen, 1994; 2000; Batsiou *et al.*, 2008; Bauman e Spungen, 2008).

2.2.4 Incontinência e infecções de repetição do trato urinário

Bexiga neurogênica é o termo utilizado para descrever as disfunções vésico-esfincterianas que acometem indivíduos com LM, as quais causam alterações do padrão miccional que pode ocorrer nas fases de enchimento vesical/reservatório e na de esvaziamento vesical. Isto ocorre devido à interrupção parcial ou total da comunicação entre o centro sacral da micção e os centros pontinos e encefálicos que são responsáveis pelo sinergismo vésico-esfincteriano e pelo controle miccional (Zerat Filho, 2010).

No caso da LM, a incontinência urinária, que seria a incapacidade de controlar o padrão miccional levando a perda de urina, pode ocorrer devido a disfunção do neurônio motor superior ou do neurônio motor inferior como explicado a seguir:

- Quando a LM for acima do centro do reflexo de micção [S2-S4] localizado no cone medular sendo assim chamada de lesão suprassacral; ocorre a interrupção parcial ou total com os centros superiores, o que causa a perda do controle voluntário da micção além da incoordenação entre funcionamento

vesical e esfinteriano, denominado dessinergismo vésico-esfinteriano gerando elevação da pressão vesical e esvaziamento vesical incompleto.

- Quando a lesão da medula acomete o neurônio motor inferior envolvendo o centro do reflexo de micção [S2-S4] no cone medular e/ou raiz do nervo sacral na cauda equina, ocorre a arreflexia vesical, causada pela lesão no centro vesical-parassimpático em nível medular. Neste tipo de lesão o padrão de atividade esfinteriana pode ser não funcionante ou hiperativo e dessinérgico

Portanto, estes indivíduos apresentam dificuldade de esvaziamento completo da bexiga, causando acúmulo de resíduo que acarreta em múltiplas infecções urinárias, muitas vezes progredindo para quadros de disfunções renais e sepse (Karlsson e Karlsson, 2006; Rapidi *et al.*, 2008; Dedic-Ljubovic *et al.*, 2009; Pannek, Kullik, *et al.*, 2009). Por isso, para a prevenção da incontinência urinária e de futuras patologias associadas ao aumento de pressão intravesical e ao dessinergismo dos esfínteres, o indivíduo com LM necessita fazer o esvaziamento vesical intervalados de 4 a 6 horas.

Existem duas formas de esvaziamento da bexiga em lesados medulares, sendo que estas dependem do nível e severidade da LM. O esvaziamento pode ser realizado espontaneamente ou não espontaneamente, em que se utiliza técnicas específicas para a ação. Estas técnicas são: (1) sonda vesical de demora; (2) cateterismo intermitente; (3) reflexo de esvaziamento sendo as manobras mais utilizadas a de Crede e Valsalva, que tem como princípio o aumento da pressão vesical externa até que esta supere a pressão vesical interna e tenha liberação dos esfínteres (Zerat Filho, 2010).

Rapidi *et al* (2008) encontraram diferenças estatisticamente significantes entre a frequência de infecções urinárias, formação de cálculos renais, episódios de incontinência urinária e dosagem de anticolinérgicos diários entre lesados medulares com ausência total de estímulo/resposta somatosensorial abaixo do nível da lesão (ASIA A) e lesados medulares com diferentes graduações de preservação

somatosensorial abaixo do nível da LM (ASIA B e C). Estas diferenças demonstraram que quanto maior comprometimento de raízes nervosas abaixo da LM o indivíduo tiver, maior é a gravidade da disfunção vesical (Rapidi *et al.*, 2008). Outro fator evidenciado em estudo de acompanhamento de 83 homens após 18 meses de LM não achou correlação entre idade e severidade de espasticidade com função urinária, por outro lado, encontrou forte correlação de indivíduos que tinham a habilidade de esvaziar a bexiga espontaneamente e nível de lesão, ASIA, maior funcionalidade e capacidade de manter ortostatismo e deambular (Aito *et al.*, 2007).

Levantando outro ponto de vista à respeito das disfunções urinárias em lesados medulares, Pannek *et al.*, em 2009, publicaram artigo que avaliou a interferência de disfunções vesicais na qualidade de vida de pessoas com LM. Para este estudo foram selecionados indivíduos com LM que utilizam o auto cateterismo intermitente (conduta de esvaziamento da bexiga feita por meio de cateter vesical, normalmente realizado de 4 em 4 horas). O estudo que utilizou exame urodinâmico e questionários para avaliação de qualidade de vida e condutas para tratamento de incontinência vesical neurogênica verificou que os indivíduos que utilizavam o auto cateterismo intermitente de maneira correta tiveram melhores resultados urodinâmicos e melhor percepção de qualidade de vida (Pannek, Gocking, *et al.*, 2009; Pannek, Kullik, *et al.*, 2009).

Outros estudos foram feitos e demonstraram forte correlação entre a eficácia de tratamentos para diminuir os problemas decorrentes da disfunção vesical e a melhora na percepção de qualidade de vida. Vale lembrar que um dos maiores problemas encontrados nesta população é a infecção do trato urinário, que na maioria das vezes é assintomática (Dedeic-Ljubovic *et al.*, 2009), sendo que um dos motivos para isto é a falta de sensibilidade no trato urinário da maioria dos lesados medulares (Pannek, Kullik, *et al.*, 2009), e a impossibilidade do total esvaziamento da bexiga mesmo com a utilização do cateterismo (Cardenas, Hoffman, *et al.*, 2004; Dedeic-Ljubovic *et al.*, 2009).

2.3 Atividade Física

Atividade física compreende todo e qualquer movimento produzido pelo sistema musculoesquelético que resulte em gasto energético acima da taxa metabólica basal (Caspersen *et al.*, 1985; Laporte *et al.*, 1985). Sendo assim, exercícios, esporte recreacional ou competitivo, AVD, atividades ocupacionais e de lazer são consideradas tipos de AF (Caspersen *et al.*, 1985). A manutenção de níveis ideais de AF tem como resultado a manutenção da aptidão física que foi definida por Caspersen *et al.* em 1985 como a capacidade de realizar as tarefas da vida diária com vigor e presteza sem fadiga e com energia suficiente para realizar atividades de lazer (Caspersen *et al.*, 1985). A aptidão física pode ser considerada uma forma de avaliar saúde geral, verificando valências cardiorrespiratórias, força e resistência muscular, flexibilidade, equilíbrio, agilidade, tempo de reação e potência (Caspersen *et al.*, 1985).

Vale ressaltar que a aptidão física está relacionada a função física, pois a capacidade do indivíduo realizar as AF com autonomia está diretamente ligada à função e controle motor, sendo assim preditor de independência funcional (Garber *et al.*, 2011; Jetha *et al.*, 2011). Portanto um dos pontos que influenciam a aptidão física de lesados medulares é a função física, que por sua vez estará alterada de acordo com o nível e severidade da LM, aspectos estes que foram abordados na seção 2.2 (Fisiopatologia da LM) (Maynard *et al.*, 1997; Cohen *et al.*, 1998; Marino *et al.*, 1999).

Os resultados da AF regular e contínua e do exercício, que é considerado uma forma de AF planejada, estruturada e mantida regularmente com o objetivo de melhorar, manter e aumentar a aptidão física (Caspersen *et al.*, 1985), estão associados com inúmeros benefícios tanto para a saúde física quanto mental em homens e mulheres de qualquer faixa etária. Vale ressaltar que pesquisadores demonstraram que somente a mudança de estilo de vida sedentário, como por exemplo hábitos de ficar sentado, assistir televisão, jogar videogame ou usar o computador (Owen *et al.*, 2010), para estilo de vida em que a pessoa possa ser classificada como “fisicamente ativa”, aumenta a longevidade, diminui as

DCNT(Haskell *et al.*, 2007; Gillison *et al.*, 2009), melhora função cognitiva e previne ou regrid quadros de depressão e ansiedade, entre outros(Martinsen, 2008; Mead *et al.*, 2009). Portanto, a AF quando feita na quantidade e intensidade corretas tem importante papel no alcance, manutenção e aumento da qualidade de vida (Conn *et al.*, 2009).

Contudo, quando a AF e o exercício são prescritos para lesados medulares vários fatores influenciam na eficácia do treinamento. Diversos estudos demonstram que a diminuição da aptidão física desta população vai além do “sedentarismo imposto” pela imobilidade ou diminuição de função dos músculos dos membros inferiores (MMII) em paraplégicos e dos MMII e membros superiores (MMSS) em tetraplégicos (Jacobs *et al.*, 2004; McCormick *et al.*, 2015). Outros pontos como alteração do SNA (Garstang *et al.*; Campagnolo *et al.*, 2000; Karlsson e Karlsson, 2006; Alexander, 2008), que podem gerar quadros de hipotensão, disreflexia autonômica, fadiga, hipertermia e até mesmo hipoglicemia são comuns em lesados medulares, e fatores como intensidade, frequência e volume da AF, além da temperatura ambiente não forem adequadas e/ou planejadas, esses indivíduos podem ter ganhos mínimos de aptidão física ou ficarem inaptas à prática de AF(Ginis, K. *et al.*, 2005; Ginis, K. a. M. *et al.*, 2005; Latimer A *et al.*, 2006; Ginis *et al.*, 2008; Bassett e Martin Ginis, 2009; Hetz *et al.*, 2009; Jetha *et al.*, 2011; Ginis *et al.*, 2012).

Não surpreendentemente, as alterações descritas na seção 2 contribuem para a diminuição da capacidade das pessoas com LM em praticar ou manter níveis adequados de AF, e inúmeros trabalhos científicos descrevem quantidade significativa de patologias associadas ao sedentarismo, entre elas, obesidade, dislipidemias, diabetes, disfunção do sistema imunológico e doenças cardiovasculares, que quando em conjunto são conhecidas por síndrome metabólica (Bauman e Spungen, 2001b; Buchholz e Bugaresti, 2005; Krause e Saunders, 2011; Perret e Stoffel-Kurt, 2011). Não por coincidência, indivíduos com LM são considerados como um dos mais sedentários entre todas as outras populações especiais e ainda, o índice de incidência dessas doenças relacionadas à inatividade física acontecem antes e são mais frequentes que na população em geral (Martin Ginis *et al.*, 2008). Por outro lado, a AF é reconhecida como o principal agente não

farmacológico no combate à síndrome metabólica, porém, os indivíduos com LM apresentam dificuldades em iniciar e em manter AF para saúde por não ter as condições físicas mínimas necessárias para isto (Campagnolo *et al.*, 2000; Karlsson e Karlsson, 2006; Campagnolo *et al.*, 2008; Furlan *et al.*, 2008). Vale ressaltar, que a avaliação física e prescrição de exercícios para pessoas com LM visando saúde ou reversão de estados patológicos relacionados à inatividade física é de grande valia, visto que as principais causas de morbidade e mortalidade em lesados medulares são problemas cardiovasculares, infecções do trato urinário e/ou respiratório, úlceras de pressão e fraturas por osteoporose, que estão de alguma maneira ligadas primordialmente à inatividade física e má alimentação (Strauss *et al.*, 2006; Krause, James S. *et al.*, 2009; Groah *et al.*, 2012).

Em 2011, o *American College of Sports Medicine*(ACSM) reuniu recomendações sobre a quantidade e qualidade de exercício necessário para desenvolver e manter funções cardiorrespiratória, musculoesquelética e neuromotora em adultos aparentemente saudáveis. Neste guia criado por estudiosos da área, foi mencionado que além da população adulta saudável, pessoas que tenham doenças crônicas e necessidades especiais que tenham passado por avaliação e liberação para prática de AF podem seguir as mesmas recomendações. Porém deve-se levar em consideração o quadro de saúde, a função física, a forma de resposta ao exercício e por fim, estabelecer as metas e objetivos de acordo com as capacidades físicas (Garber *et al.*, 2011).

Portanto, torna-se imperativo o desenvolvimento de pesquisas para aperfeiçoar as formas de avaliar e prescrever AF para indivíduos com LM, levando em conta as características fisiológicas desta condição, já mencionadas anteriormente. Inúmeros grupos de pesquisa espalhados pelo mundo estão reunindo esforços para conseguir melhor embasamento neste assunto, na tentativa de obter instrumentos práticos e baratos para avaliar o nível de AF e os riscos associados ao grau de aptidão física deste indivíduos (Ginis, K. *et al.*, 2005; Latimer A *et al.*, 2006; Van Der Ploeg *et al.*, 2007; Bassett e Martin Ginis, 2009; Tanhoffer R. A. *et al.*, 2012; Tanhoffer *et al.*, 2012; Hasnan *et al.*, 2013; Tanhoffer *et al.*, 2014; Tanhoffer *et al.*, 2015; Gorla *et al.*, 2016).

2.4 Ácidos graxos

Lipídios ou gorduras, são definidos como moléculas biológicas altamente solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água. Os lipídios podem ser encontrados em diferentes estados, sendo que tecnicamente são chamados de gorduras se sólidos à temperatura ambiente, como por exemplo os lipídios derivados de fontes animais como a banha e manteiga, e quando líquidos à temperatura ambiente são chamados de óleos, sendo que a maioria provém de vegetais(Curi, 2009; Curi *et al.*, 2002).

A estrutura fundamental dos lipídios é composta por ácidos graxos (AG) ou estruturas diretamente relacionadas a eles, como os álcoois, aldeídos e aminas. Os ácidos graxos são as unidades fundamentais para a síntese de lipídios, constituídos por cadeias de átomos de carbono, ligados aos átomos de hidrogênio(Curi *et al.*, 2002). São importantes fontes de energia para o metabolismo (Menendez e Lupu) sendo derivados no animal de duas maneiras: a exógena, vinda da alimentação e a endógena, vinda da biossíntese (Vescovi *et al.*, 2008). As propriedades dos AG, como solubilidade e flexibilidade, são determinadas pelo tamanho da cadeia e grau de insaturação, sendo que os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) de cadeia longa, são mais flexíveis e solúveis que os saturados (Nettleton, 1995).

De maneira geral, as células humanas possuem pelo menos duas vezes mais AG insaturados que saturados, porém isto pode ser influenciado pela dieta, sendo assim, o tipo de AG contido nos lipídios ingeridos direcionará a razão AG saturados/AG insaturados.Os AG insaturados são divididos em quatro classes, sendo cada uma composta por uma família de AG sendo que todos os membros desta família podem ser sintetizados biologicamente a partir daqueles oferecidos pelos absorvidos pela dieta(Silverthorn, 2010; Curi *et al.*, 2002).

Há duas importantes classes de AGPI: (i) a família n–6 (ômega–6), derivada do AG essencial linoléico (AL) que é convertido em ácido araquidônico; e (ii) a família n–3 (ômega–3), derivada do AG essencial α -Linolênico (ALA) que é convertido em ácido eicosapentaenóico (EPA) e em ácido docosaexaenóico (DHA).

Esses dois ácidos AL e ALA são considerados essenciais por serem imprescindíveis ao organismo, pois este não é capaz de sintetizá-los devido à falta das enzimas delta-12 dessaturase e delta-15 dessaturase. Outro fator que os torna essenciais é que os AG de uma determinada família não podem ser biologicamente convertidos em outra família, por exemplo, nenhum membro da família n-6(AL) pode ser convertido em n-3 (ALA)(Curi, 2009; Silverthorn, 2010; Curi *et al.*, 2002).

Porém, apesar destas duas famílias de AG competirem pelas mesmas dessaturases, estas têm ação preferencial sobre AG ômega-3, e exatamente devido à esta competição, o ideal é que a dieta alimentar tenha uma quantidade de ingestão maior de n-6 que n-3 auxiliando assim a homeostase. Esta ingestão ideal seria de uma razão de 1-2 de n-6 para 1 de n-3 (1-2:1) (Simopoulos, 1998; 1999; 2000).

Contudo, atualmente as dietas ocidentais são ricas em produtos da família n-6, como óleos vegetais e sementes (milho, girassol e soja) que quando em grandes quantidades no corpo humano induzem características inflamatórias e cancerígenas, favorecendo o aparecimento das patologias citadas anteriormente e do estado pró-inflamatório. Já os AGPI da família n-3, encontrados principalmente em peixes, OP, canola e linhaça, nozes, bem como em folhas verdes escuras tendem a ter propriedades benéficas mencionadas anteriormente (Rose, D.P. e Connolly, J.M. , 1999), porém, devido à característica da dieta ocidental, este importante elemento nutricional vem sendo consumido de maneira inadequada, abaixo do necessário. Isto pode ser evidenciado através de pesquisas que verificaram razões entre n-6:n-3 que varia desde 10:1 até 30:1 (Simopoulos, 2008b; a).

A última consideração a se fazer sobre as famílias n-3 e n-6 é que a deficiência de um destes AG essenciais no organismo não pode ser revertida pela adição de AG de outra família, porém, a deficiência de n-6 pode ser revertida tanto pela adição de ácido linoléico, como pelos ácidos gama-linolênico ou araquidônico. Sendo que de forma semelhante, a deficiência de ômega 3 pode ser revertida pela adição de ácido alfa-linolênico, eicosapentaenóico ou docosahexaenóico. Portanto, não existe um ácido essencial em particular e sim duas classes de AG essenciais. Outra peculiaridade destas duas famílias de AGPI é que elas competem pelas mesmas enzimas no processo de alongamento e dessaturação, pois são

comuns a ambas vias metabólicas, possibilitando que suas diferenças estruturais produzam eicosanóides com funções diferenciadas (Curi, 2009; Silverthorn, 2010; Curi *et al.*, 2002).

O ácido araquidônico (n-6) e o EPA (n-3) dão origem a eicosanóides via enzimas cicloxigenase 2 (COX) e lipoxigenase (LOX). Eicosanóides são moléculas compostas por 20 átomos de carbonos que desempenham funções específicas nas células, entre as quais, potentes sinalizadores que agem como mensageiros de curta duração e distância, afetando os tecidos circunvizinhos (Lehninger *et al.*, 2000). Eicosanóides são as prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanas. A enzima COX catalisa a conversão do ácido araquidônico e do EPA em prostanóides (Williams *et al.*, 1996). Existem duas isoformas de COX: a COX-1, que é expressa constitutivamente em muitos tecidos; e a COX-2, associada a respostas inflamatórias e induzidas por vários tipos de estímulos incluindo citocinas, promotores tumorais e fatores de crescimento (Cao *et al.*, 1996). Por ação dessa enzima, AGPI n-6 formam prostaglandinas da série 2 e leucotrienos da série 4. Já a família de AGPI n-3, formam os da série 3 de prostanóides (prostaglandinas e tromboxanas) e a série 5 dos leucotrienos. Os eicosanóides produzidos pela família n-6, principalmente prostaglandinas da série 2, apresentam potente efeito inflamatório por possuírem maior atividade vasoconstritora, maior capacidade de agregação plaquetária e serem fortes agentes quimiotáticos (Curi *et al.*, 2002). Os produtos da família n-6 apresentam características inflamatórias e pró-cancerígenas, favorecendo o aparecimento de patologias como câncer, elevação da pressão arterial, morte súbita entre outras. Já os da família n-3 tendem a ter propriedades benéficas, tais como imunomoduladoras, antiinflamatórias, antitrombóticas, antiarrítmicas, hipolipídemicas e vasodilatadoras (Rose, D.P. e Connolly, J.M. , 1999).

De fato, estudos em humanos, demonstraram que a ingestão de peixes, principal fonte de AGPI n-3, evita distúrbios neurológicos e visuais por agir como modulador de diversos processos bioquímicos e fisiológicos (Naliwaiko *et al.*, 2004; King *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2007; Michael-Titus, 2007; Dyllal e Michael-Titus, 2008b), reduzem as concentrações de lipídios do sangue (Williams, 2000; Yamazaki *et al.*, 2011), e reduzem o risco de doenças cardiovasculares (Tapiero *et al.*, 2002;

Mozaffarian, 2008). Segundo Lands, 2008, há 50 anos, em resposta ao crescente número de doenças cardíacas, a Associação Americana do Coração, (AHA - American Heart Association) aconselhou a população a seguir quatro passos (Lands, 2008): (i) Ingerir menos calorias; (ii) Ingerir menos calorias a partir de gorduras; (iii) Trocar gordura saturada por insaturada; (iv) Ingerir gordura poliinsaturada. Em adição, outros estudos demonstram que os efeitos benéficos dos AGPI também estão presentes na modulação de parâmetros que participam na resposta imunitária, agindo como imunomodulador (Javierre *et al.*, 2005; Javierre, Vidal, Segura, Lizarraga, Medina, Ventura, *et al.*, 2006; King *et al.*, 2006). Pesquisas verificaram que os AGPI n-3 promoveram redução significativa na inflamação de pacientes portadores de artrite reumatóide, psoríase, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla (De Pablo *et al.*, 2000), colite ulcerativa, doença de Crohn, e na prevenção, reincidência e metástases de câncer (Tapiero *et al.*, 2002; Yamazaki *et al.*, 2011). Especificamente sobre os efeitos benéficos no tecido ósseo, Kruger *et al.* (1998) verificaram que em indivíduos senis, dietas com suplementação de cálcio, ácido α -linoléico e EPA demonstraram redução na reabsorção óssea e aumento na densidade mineral óssea na região femoral e de coluna lombar (Kruger *et al.*, 1998).

Segundo estudo conduzido pela Associação Americana do Coração (AHA - American Heart Association) (Kris-Etherton P. M. *et al.*, 2003), apesar de suplementações de baixa (até 1g/dia) e moderada (de 1 até 3g/dia) dosagens serem comprovadamente seguras para a população em geral, a suplementação com cápsulas de óleo de peixe pode apresentar alguns efeitos colaterais tais como:

- ✓ Durante os primeiros dias de ingestão, pode-se notar um sabor de peixe ou mau halito, sendo que alguns indivíduos relataram odor de peixe.
- ✓ Alguns indivíduos podem apresentar distúrbios gastrintestinais (que podem ser desde fezes gordurosas e surtos de diarreia até o aumento de eructações, indigestão, refluxo ácido, inchaço, ou dor abdominal).
- ✓ Por sua ação antiagregante plaquetária, o consumo do óleo de peixe traz risco de sangramento, que é consideravelmente menor quando comparado à ingestão de aspirina. Portanto, pode ocorrer aumento do tempo de sangramento (sangramento gengival e nasal).
- ✓ Aumento da concentração de colesterol total em pacientes com hiperlipidemia mista e aumento consistente do LDL-c, pois algumas preparações contêm colesterol.

Relatam-se também, aumento da ingestão calórica e do peso corpóreo; ocorrência rara de intoxicação por vitamina A e D com algumas preparações; aumento da capacidade oxidante dos monócitos/macrófagos e da capacidade de captação das LDL pelos macrófagos, quando ingeridos em grandes doses (>3g/dia).

✓ Grandes doses podem em indivíduos diabéticos, causar aumento na concentração de açúcar no sangue.

Vale ressaltar, que até o presente momento as pesquisas utilizando suplementação de OP em indivíduos com LM são inconclusivas. Desta forma, se faz necessário mais estudos que analisem se os mecanismos associados à suplementação com OP e melhoria funcional do sistema imunitário, metabólico e neuromuscular já demonstrados em outras populações, podem trazer os mesmos benefícios para a população com LM. Portanto, estudos que contribuam com o melhor entendimento do funcionamento do organismo após a LM, em adição a formas de intervenção (AF e suplementação), para reverter os processos degenerativos induzidos pela LM e suas fisiopatologias secundárias podem ser fundamentais para a melhora da qualidade de vida destes indivíduos (Bauman Wa *et al.*, 2005; Maimoun *et al.*, 2006; Morse L D *et al.*, 2009; Morse L R *et al.*, 2009).

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Recrutamento

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Paraná (UFPR) no dia 21/12/2014 – Número do Parecer: 969.207 – CAAE: 17972013.4.0000.0102 (ANEXO 1). Foram recrutados homens com lesão medular e hígidos que não tivessem LM ou outra patologia citada nos critérios de exclusão.

Não foi possível realizar cálculo amostral para este projeto por não ter sido encontrado nenhum documento governamental ou científico que atestasse o número de lesados medulares residentes na localidade, além disto não existe material científico que pudesse ser analisado para embasar e delimitar a quantidade necessária de lesados medulares para conseguirmos uma amostra que tivesse poder estatístico, portanto, a amostra utilizada foi por conveniência (Anderson *et al.*, 2005).

Previamente ao recrutamento foram realizadas visitas a clínicas, centros de reabilitação e clubes desportivos de Curitiba e Região Metropolitana que atendiam esta população, onde o projeto foi apresentado aos responsáveis técnicos e profissionais dos locais visitados. Após a aprovação e concordância dos profissionais, cartazes do projeto foram afixados no local. Estes cartazes continham breve explicação sobre a pesquisa, telefone e email de dois pesquisadores. Além disto, foi acordado com os profissionais dos estabelecimentos contatados que visitas para recrutamento seriam feitas com agendamento prévio. De forma a agilizar o recrutamento, agenda de visitas foi criada, sendo assim possível conversar pessoalmente com todos os indivíduos com LM vinculados às clínicas e centros desportivos visitados. A Figura 2 mostra como foram os procedimentos de recrutamento e seleção dos participantes.

Pelo fato da quantidade de pessoas com LM frequentando estes estabelecimentos ser reduzida, outra maneira de recrutar participantes foi utilizando

meios de comunicação como telefone, email e redes sociais, como o *facebook*. Estes contatos foram feitos por meio de listas de indivíduos aguardando tratamento e vagas para prática desportiva, além disto, diversos indivíduos nos procuraram para saber mais informações sobre o estudo por terem sido convidados por participantes que aceitaram fazer parte da pesquisa.

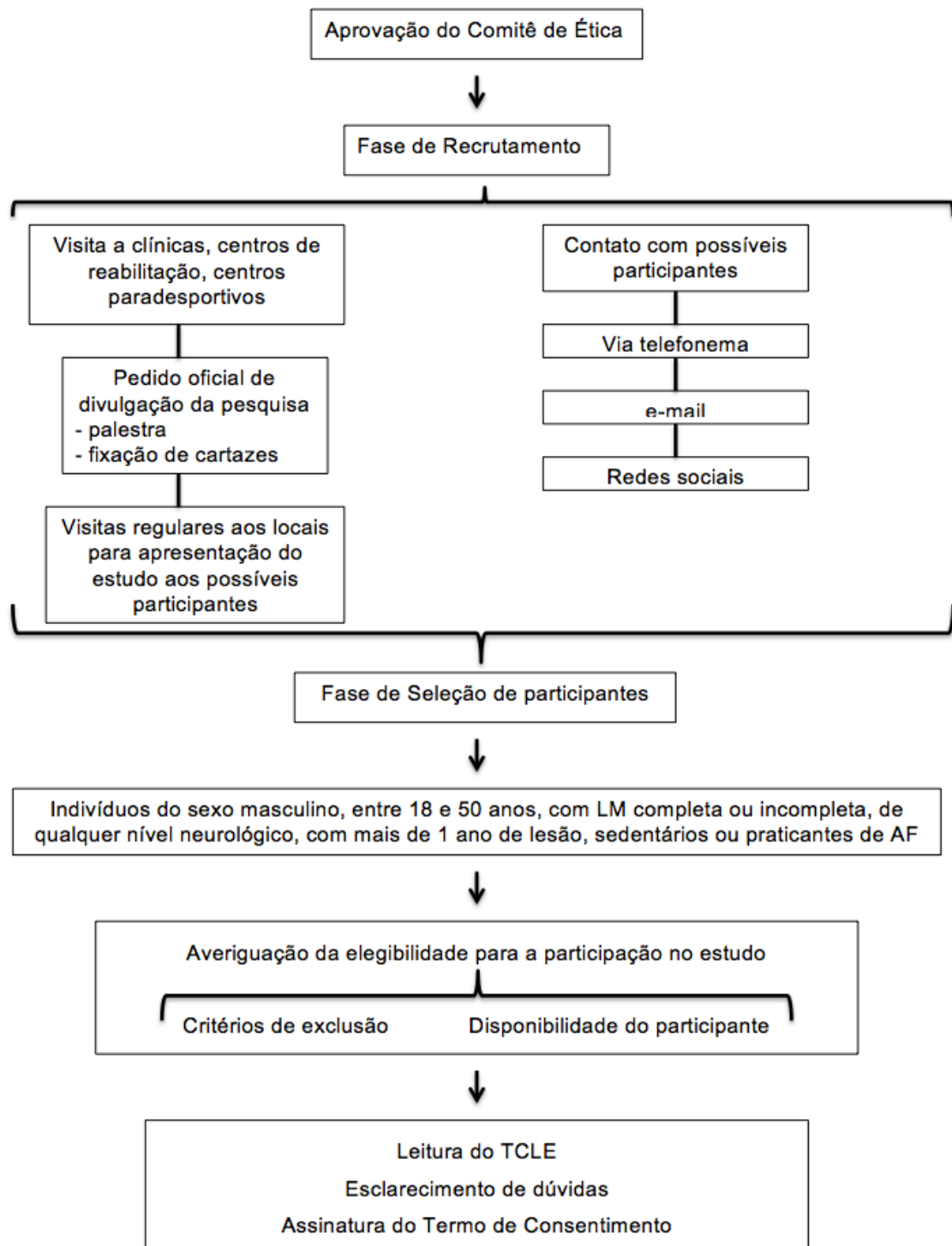


FIGURA2 Delineamento do Recrutamento.

A fase de seleção de participantes, também representada na Figura 2 foi realizada em duas etapas, sendo que a primeira consistiu na confirmação dos pré-requisitos para fazer parte do estudo e a segunda etapa da seleção que era a confirmação dos critérios de inclusão e exclusão e a disponibilidade do participante foram feitas no primeiro dia do estudo (D1).

Vale ressaltar que nos contatos que foram feitos pessoalmente, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 1) contendo todas as informações pertinentes ao estudo foi entregue e após a leitura deste, todas as dúvidas eram sanadas e os indivíduos eram convidados a participar do estudo de forma voluntária.

Por outro lado, em contatos que foram feitos por telefonema a pessoa era colocada à par da pesquisa e todas as informações pertinentes eram enviadas via correio ou email. No caso dos contatos por email ou Facebook foi redigido uma mensagem convite padrão apresentando a equipe e explicando do que se tratava a pesquisa, sendo que o TCLE foi enviado em anexo para leitura.

3.1.1 População

Foram recrutados indivíduos do gênero masculino, entre 18 e 50 anos, com LM completa ou incompleta, de qualquer nível neurológico, com mais de 1 ano de lesão, sedentários ou praticantes de AF regular. Para o grupo controle foram recrutados indivíduos hígidos do gênero masculino, que foram pareados pela idade e dados antropométricos aos indivíduos com LM. O grupo de indivíduos hígidos foi formado por homens saudáveis porém sedentários, esta decisão foi tomada após levantamento de dados que demonstrou que a maioria da população brasileira é classificada como sedentária. Em adição, dado os objetivos da pesquisa, a comparação das respostas de indivíduos com o SNC intacto e com o SNC lesionado é de maior relevância, sem interferência do nível de AF (Florindo *et al.*, 2009; Reis *et al.*, 2009; Brito *et al.*, 2012; Madeira *et al.*, 2013). Como as pesquisas sobre suplementação com OP em lesados medulares são poucas e controversas, o grupo de indivíduos sem lesão medular ou qualquer outro tipo de complicação neurológica

também foi utilizado para avaliar se existe alguma diferença em incorporação do OP e se a LM tem influência na significância dos efeitos provindos desta suplementação.

Os critérios de exclusão desta pesquisa para ambos os grupos foram:

- indivíduos que tinham alterações ortopédicas importantes (ex. osteoporose, fraturas);
- espasticidade severa;
- úlceras de pressão;
- problemas cardiovasculares;
- outros problemas neurológicos associados;
- diabetes mellitus;
- utilização prévia de Omega-3 (EPA e DHA);
- alergia a peixe, frutos do mar e derivados;

Em caso de interesse em participar da pesquisa, os indivíduos foram convidados à comparecer ao Centro Politécnico - Setor de Ciências Biológicas - Departamento de Fisiologia para o primeiro dia de avaliação - D1. Este convite era mandado por correio eletrônico, com todas as instruções necessárias além de mapa com a exata localização do Setor de Ciências Biológicas, bem como das rotas para chegar ao local de automóvel e ônibus de linha. Além disto era assegurado que uma pessoa estaria esperando no estacionamento no horário marcado.

3.2 Desenho Experimental

O Estudo contou com uma equipe formada por uma fisioterapeuta (doutoranda da Pós graduação de Educação Física da UFPR) et al para a realização de testes específicos (doutorandos da Pós-Graduação em Educação Física e Fisiologia da UFPR, e pós-doutorando em Pós-graduação da Fisiologia da UFPR).

O diagrama do Protocolo do Estudo (Figura 3) demonstra o desenho geral dapesquisa, que foi dividida em três estudos realizados separadamente.

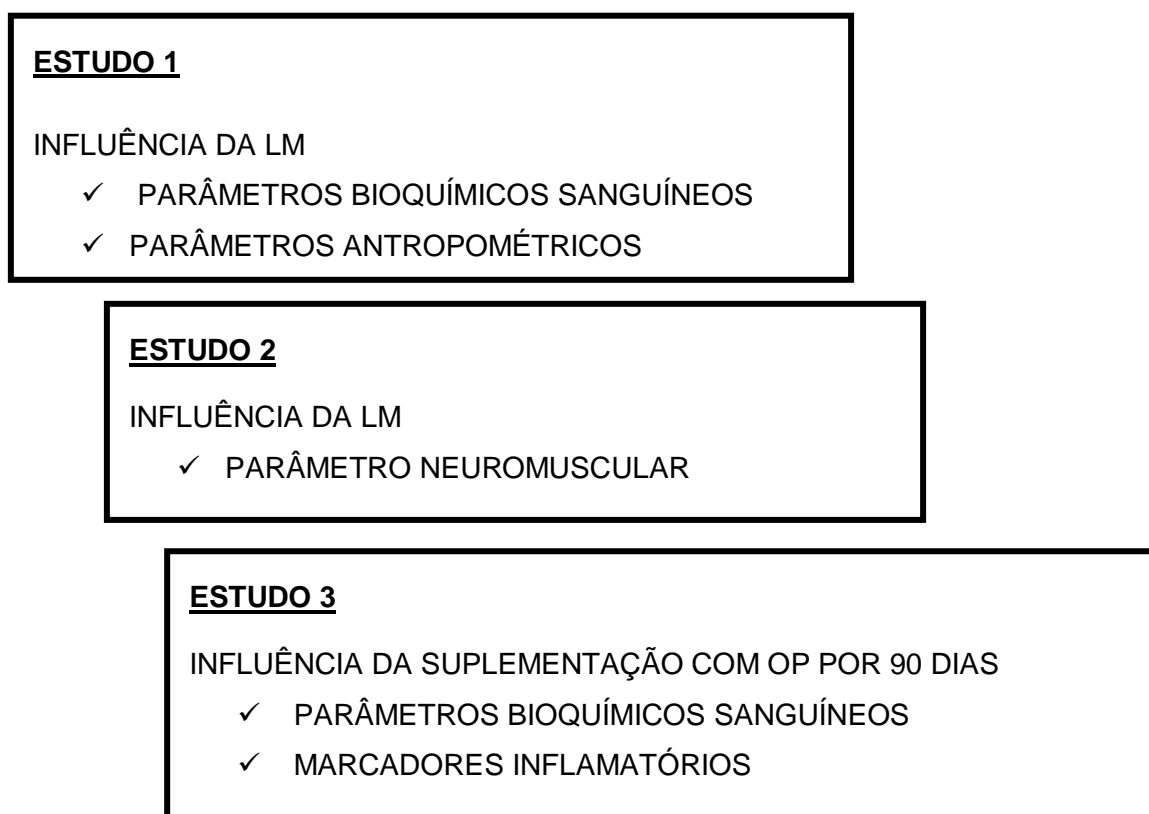


FIGURA 3 Diagrama do protocolo do estudo. (LM - Lesão Medular; OP - Óleo de Peixe)

Participantes realizaram a rotina abaixo descrita, sendo os testes aplicados sempre pelas mesmas pessoas que seguiram rigorosamente o protocolo desenvolvido.

Estudo 1

Primeiro Dia - D1

- Avaliação para confirmação de elegibilidade
- Avaliação do grau de comprometimento da função muscular e sensorial seguindo os padrões Internacionais de Classificação Neurológica da LM desenvolvido pela Associação Americana de LM (escala ASIA)
- Avaliação do nível de AF segundocritérios seguidos pelo *American Colege of Sport and Medicine* (ACSM)

Segundo dia – D2

No segundo dia foi realizada:

- Coleta de sangue por profissional capacitado
- Coleta da amostra de urina que o participante deveria trazer de casa
- Medidas antropométricas (massa corporal, estatura, circunferências)

Estudo 2

Foi realizado:

- Teste de Força dos músculos Bíceps Braquial dos braços direito e esquerdo.
- Eletromiografia (EMG) do músculo bíceps braquial de ambos os braços.

Estudo 3

- Coleta de sangue por profissional capacitado após 90 dias de suplementação com OP.

Para preservar a integridade física dos participantes, as intervenções foram realizadas em salas bem arejadas e iluminadas, acessíveis a cadeiras de rodas, com piso não escorregadio e banheiro adaptado. Para maior segurança e comodidade, uma maca da altura ideal para a transferência (entre 50 e 60 cm de altura) foi utilizada para as intervenções necessárias. A doutoranda ficou encarregada de auxiliar os participantes para a transferência do carro para a cadeira de rodas e para o local da avaliação nos casos em que foi preciso. Todos os testes foram feitos no mesmo local, facilitando assim o retorno dos participantes.

Após a primeira bateria de testes do Estudo 1 e Estudo 2, os participantes foram convidados a participar do Estudo 3. Estes participantes deveriam manter a sua rotina diária, sem acrescentar nenhum tipo de AF a mais do que as que costumavam fazer sem comunicar o pesquisador. Para este estudo foram fornecidas cápsulas de óleo de peixe que deveriam ser tomadas todos os dias até o retorno. Os participantes foram instruídos a ingerir 2 cápsulas de óleo de peixe por dia, uma após o almoço e uma após o jantar. Todos os participantes eram monitorados através da ferramenta Whatsapp, sendo que diariamente enviava-se uma

mensagem perguntando como o participante estava se sentindo e se tinha tomado as cápsulas de OP. Adequações quanto aos horários de ingestão das cápsulas foram feitas quando houve necessidade sem comprometimento do estudo, isto porque a dose diária é considerada baixa e a absorção não seria comprometida pelo horário que as cápsulas fossem ingeridas (Kris-Etherton P. M. *et al.*, 2003; Javierre, Vidal, Segura, Lizarraga, Medina e Ventura, 2006; Dyll e Michael-Titus, 2008b)

CAPÍTULO 4

ESTUDO 1

ANTROPOMETRIA E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

4. ANTROPOMETRIA E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE INDIVÍDUOS COM LM EM CURITIBA E REGIÃO METROPOLITANA

4.1 INTRODUÇÃO

Indivíduos com LM, com o passar dos anos tendem a ter risco de complicações secundárias aumentado, sendo que esta predisposição à algumas comorbidades aumenta ainda mais com o envelhecimento (Groah *et al.*, 2012). Estas informações encontradas após pesquisa realizada com base nos dados longitudinais do Centro Nacional de Estatísticas em Lesão Medular dos EUA, nos conduz a duas linhas de pensamento quando trabalha-se com LM. Primeiramente, constatou-se que as pessoas com LM estão vivendo mais, esta longevidade decorre do aumento das estratégias de prevenção de comorbidades e da prestação e qualidade da reabilitação logo após a LM. O outro ponto que levou ao aumento de pessoas idosas com LM foi o fenômeno que está sendo chamado de distribuição bimodal de lesões medulares, sendo esta devido à idade em que ocorre a lesão. Isto se deve ao aumento da longevidade populacional, o que levou a aumento de lesões medulares por queda em pessoas com mais de 65 anos (Van Den Berg *et al.*, 2010; Chamberlain *et al.*, 2015). Vale lembrar que casos de LM na faixa etária de 16 a 30 anos de idade decorrentes de acidentes de trânsito, violência e acidentes em esportes continuam ocorrendo, porém esta porcentagem reduziu para aproximadamente 75% das LM anuais que ocorrem na Europa, Canadá e Estados Unidos (Krause e Saunders, 2011)

Portanto, a saúde geral desta população necessita de atenção básica (Saúde, 2012), para que estes indivíduos possam viver de uma maneira saudável e sem que este processo de envelhecimento aumente o número de comorbidades e consequentemente diminua a qualidade de vida destes indivíduos (Kirshblum *et al.*; Groah *et al.*, 2009; Hetz *et al.*, 2011; Groah *et al.*, 2012).

Resumidamente, as comorbidades como problemas no trato urinário, úlceras de pressão, dor, problemas ortopédicos, espasticidade, diabetes melitus, fadiga e processos inflamatórios em geral são constantemente encontradas em indivíduos

com LM(Dalyan *et al.*, 1999; Hetz *et al.*, 2011). Aproximadamente 95% dos lesados medulares apresentam pelo menos uma doença secundária, sendo que 58% destes, convivem com três ou mais comorbidades durante a sua vida (Anson e Shepherd, 1996). Outro fator que deve ser levado em conta, é que estas complicações sofrem interferências de fatores como idade, dieta nutricional, tempo e altura de lesão (Groah *et al.*, 2009; Groah *et al.*, 2012)

Além disto, o aumento da adiposidade relacionado à inatividade física e aos maus hábitos alimentares é preocupante por ser um fator que aumenta a predisposição a processos inflamatórios, síndrome metabólica e consequentemente doenças cardiovasculares (Bauman e Spungen, 1994; 2000; 2001a; b; 2008). Registros mostram que em 2006 aproximadamente 66% dos indivíduos com LM estavam acima do peso e 30% foram considerados obesos em uma amostra de 408 veteranos de guerra com LM(Gupta *et al.*, 2006). Yekutieli *et al.* em 1989, verificaram que também em uma amostra dessa população de Israel ocorreu a incidência de hipertensão arterial e doenças coronarianas isquêmicas, sendo esta significativamente maior quando comparada à de hígidos pareados (Yekutieli *et al.*, 1989). Portanto, constata-se que esta relação entre o nível de atividade física, a qualidade da alimentação e as alterações provindas da LM formam uma tríade que causa complicações, que aumentam a morbidade e a mortalidade desta população nas últimas décadas (Charles *et al.*, 1978; Gondim *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2006; Cowan *et al.*, 2009; Groah *et al.*, 2009; Cowan e Nash, 2010).

Na busca da integralidade do atendimento ao indivíduo com LM, a atenção básica deveria ser o ponto de partida para que os profissionais da área de saúde pudessem trabalhar interdisciplinarmente na manutenção, prevenção e busca da saúde do LM. Para tanto, uma forma menos onerosa e de fácil acesso a todos os profissionais de saúde para se manter à par do estado de saúde das pessoas com LM, seria a utilização dos parâmetros antropométricos, bioquímicos plasmáticos, hematológicos e de velocidade de hemossedimentação (VHS) para a manutenção de um histórico do indivíduo com o passar dos anos de LM. Porém, são poucos os estudos que verificaram se os parâmetros que podem ser utilizados para este controle de saúde tem os mesmos valores referenciais que os de indivíduos

hígidos. Além disto, são escassos os estudos que tratam deste tipo de prática nesta população (Javidan *et al.*, 2015; La Fontaine *et al.*, 2015; Laclaustra *et al.*, 2015).

Portanto, o intuito deste estudo foi verificar em amostra populacional de LM de Curitiba e Região Metropolitana os parâmetros acima citados bem como compará-los com os dados já existentes em população hígida da mesma região. Além disto, a existência de correlações entre os dados coletados e as comorbidades apresentadas pelos participantes foram analisadas.

4.1.1 Objetivo geral

Determinar se existem diferenças nos parâmetros bioquímicos plasmáticos relacionando-os ao nível/severidade da LM, nível de AF e medidas antropométricas dos participantes com LM, e compará-los aos encontrados no grupo de indivíduos hígidos.

4.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar a relação entre o nível de AF e o nível e severidade da LM.
- Avaliar os parâmetros antropométricos dos participantes com LM e verificar qual a classificação destes de acordo com o IMC. Correlacionar o IMC com nível e severidade da LM.
- Verificar se existe correlação entre parâmetros plasmáticos, nível e severidade de LM e nível de AF.
- Comparar os resultados de parâmetros plasmáticos de participantes hígidos com os lesados medulares.

4.1.3 Hipóteses

- H1. O nível de AF estará relacionado ao nível e severidade da LM.
- H2. Os parâmetros antropométricos apresentarão correlação com nível da LM, sendo que quanto maior o nível e severidade da LM, maiores serão as alterações em dados como massa corporal, circunferências e IMC.
- H3. Os parâmetros bioquímicos plasmáticos apresentarão correlação com nível da LM, quanto maior o nível da lesão, maiores e mais graves serão as alterações plasmáticas.
- H4. Os parâmetros bioquímicos plasmáticos apresentarão correlação com severidade da LM, sendo que as lesões completas terão maiores alterações plasmáticas.
- H5. Os parâmetros bioquímicos plasmáticos apresentarão correlação com nível de AF, sendo que os participantes sedentários apresentarão alterações plasmáticas mais severas que os fisicamente ativos, independente do nível e severidade da LM.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Participantes do estudo

Esta pesquisa trata-se de estudo transversal. Os participantes foram recrutados como descrito na seção 3.1 do Capítulo 3.

4.2.2 Procedimentos gerais

Para a coleta dos dados necessários para este estudo, os participantes compareceram dois dias ao local de avaliação, os quais estão detalhados a seguir como D1 (Figura 4) e D2 (Figura 5).

Dia 1

Ao chegar no local de testes, o participante foi recebido por um dos colaboradores da pesquisa e levado a sala de convivência de onde era encaminhado à outra sala para as demais avaliações, sendo que a partir deste momento era solicitado à todos os acompanhantes para esperarem na sala de convivência destinada a eles. Este procedimento foi realizado no intuito de proporcionar maior liberdade aos entrevistados, não causando assim interferências de outras pessoas nas respostas de cada instrumento utilizado. O diagrama abaixo mostra uma visão geral de como ocorreu o andamento dos testes.

Primeiramente, os participantes do estudo foram informados dos procedimentos experimentais de forma detalhada, sendo explicado como seria cada teste e para que ele serviria. Além disto, era esclarecido que se o participante passasse pelos critérios de inclusão e fosse apto a participar do estudo, todas as informações coletadas desde a obtenção do TCLE até a coleta de dados e o tratamento destes, seriam armazenados e utilizados para fins científicos e que ficariam arquivados sob a responsabilidade do professor responsável pela pesquisa.

Também foi assegurada a total liberdade dos participantes para recusar ou desistir de participar do estudo em qualquer momento da pesquisa, sem prejuízo ou penalização alguma para os mesmos.

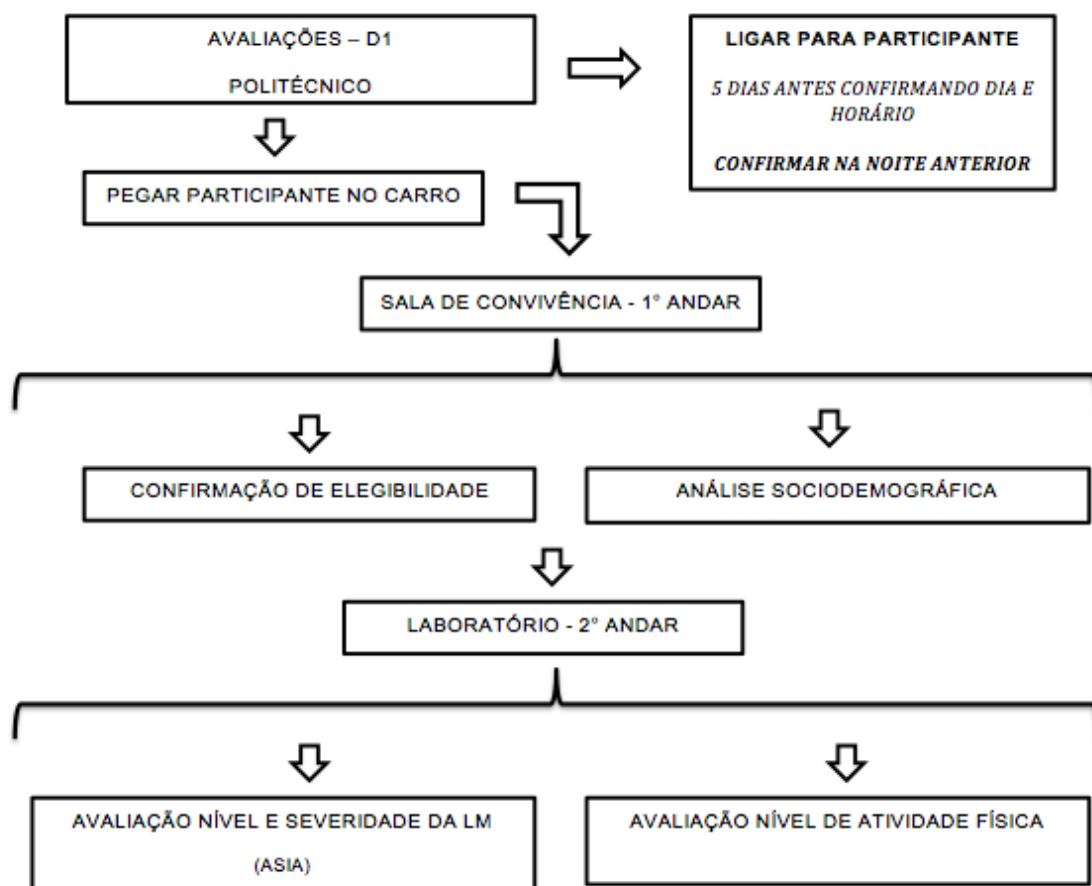


FIGURA 4 Esquematização do procedimento realizado no D1.

Todos os participantes passaram pela averiguação da elegibilidade para a participação no estudo. Os critérios de inclusão foram checados e após isto os critérios de exclusão foram avaliados em forma de perguntas diretas, quando não elegível era explicado para o indivíduo o porque da sua impossibilidade de participar e ele era liberado.

Os indivíduos elegíveis assinaram o TCLE em duas vias, sendo uma delas guardada na universidade (por 5 anos) e outra dada para o participante. O agendamento de testes era realizado pela doutoranda, a qual passou todas as informações necessárias para a execução dos testes. Estas informações foram

entregues na forma impressa, contendo a data, horário e local de cada teste bem como a vestimenta apropriada, e quando pertinentes, quais eram as preparações necessárias para a realização do mesmo. O avaliador responsável, no momento da assinatura do TCLE pelo participante, organizou uma lista por ordem de chegada, o que seria utilizado para todos os testes. Sendo assim, a partir deste dia todas as avaliações e coletas foram identificadas por número.

Foi realizada análise sociodemográfica e logo após devido à diversidade de apresentações clínicas encontradas entre os indivíduos com LM, o grau de comprometimento da função muscular e sensorial foi verificado. Além do nível neurológico da lesão medular, os participantes foram também separados de acordo com o nível de AF, sendo alocados nos grupos sedentários e praticantes de AF regular.

Ao término dos testes no D1, os participantes marcaram o retorno para a coleta de sangue e mensurações antropométricas no **D2**. Todas as informações necessárias eram passadas e um papel era entregue com a data da coleta, horário e recomendações. Na semana da coleta de sangue os participantes eram contactados para confirmar a ida ao laboratório e no dia anterior ao teste, pela manhã, uma mensagem era mandada lembrando da coleta de sangue do dia seguinte como também das recomendações passadas anteriormente. Para este dia de testes o participante foi orientado a vestir roupa leve, de preferência camiseta regata para facilitar as mensurações e execução dos testes.

Como especificado na seção 3.1.1, os participantes foram auxiliados pela avaliadora em todo o processo de avaliações do D2, sendo que, após os procedimentos deste dia, foi explicado novamente o que seria feito no próximo dia de teste e uma data foi pré-agendada para o retorno ao local para os testes do D3.

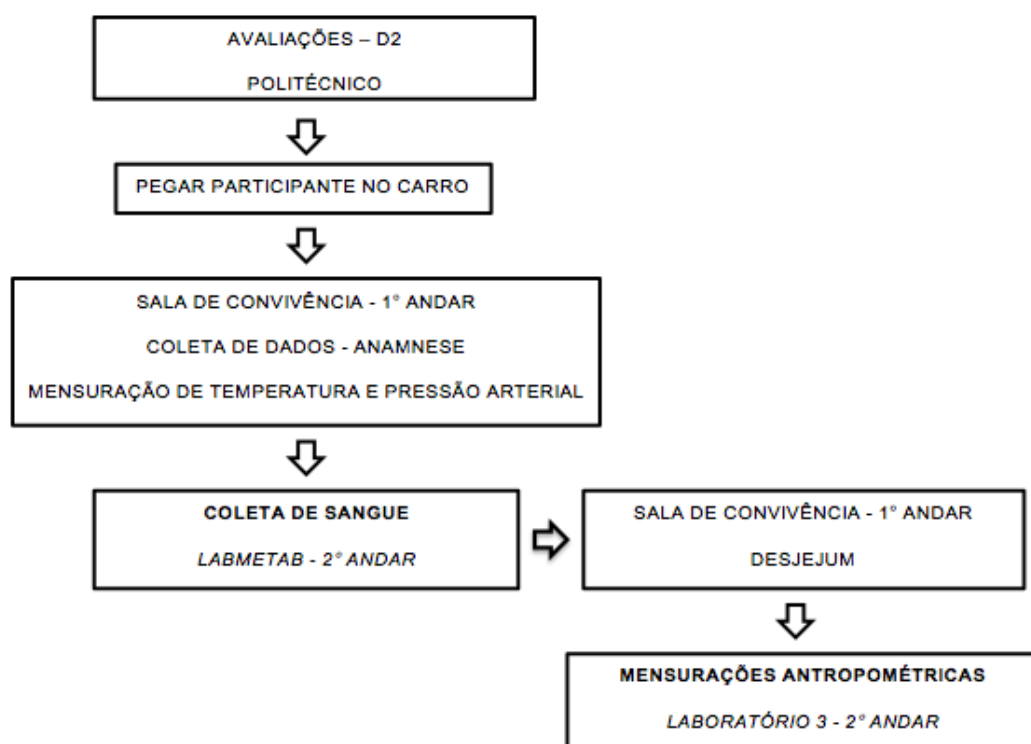


FIGURA 5 Esquematização do procedimento realizado no D2.

4.2.3 Avaliações

4.2.3.1 Análise Sociodemográfica

Todos os participantes responderam a um questionário para análise sociodemográfica que foi entregue no primeiro dia de avaliações e explicado como deveria ser preenchido, sendo que os participantes deveriam fazer um ponto de interrogação e deixar em branco as perguntas que não entendessem, sendo que estes foram revisados com a pesquisadora e as dúvidas sanadas.

O instrumento recolheu informações sobre saúde geral, hábitos de vida e outros tópicos como nome, data de nascimento, gênero (sexo), estado civil, ocupação profissional, grau de escolaridade, diagnóstico clínico, causa da lesão, tipo

da lesão, tempo de lesão, cirurgias recentes, medicamentos de uso contínuo, inspeção da pele, meio de locomoção e transporte.

4.2.3.2 Classificação neurológica da LM - ASIA

Associação Americana do Trauma Raquimedular (ASIA – *American Spine Injury Association*) descreveu e padronizou a classificação neurológica da LM com o objetivo de avaliar a motricidade e a sensibilidade do LM utilizando como base para esta classificação o nível e severidade do trauma raquimedular. Para isto, seguindo os padrões Internacionais de Classificação Neurológica da LM, desenvolvido pela Associação Americana de LM (ASIA) (Maynard *et al.*, 1997; Marino *et al.*, 2003), foi normatizado que o nível neurológico referiria-se ao segmento mais inferior da medula que apresenta sensibilidade e função motora normais em ambos os lados do corpo (ANEXO 2) (Kirshblum *et al.*, 2011)

Assim foram convencionados os termos LM completa, utilizado quando existe ausência da função motora e sensitiva a partir do segmento lesado e incompleta quando alguma função sensitiva e/ou motora abaixo do nível neurológico permanecia intacta.

Neste instrumento o exame sensitivo avalia sensibilidade ao contato por meio de toque leve com algodão e sensibilidade dolorosa com leve pressão de agulha descartável nos dermatômos referentes a cada nível de raiz nervosa. Portanto, 28 dermatômos (lado direito e esquerdo do corpo) são avaliados (Marino *et al.*, 2003)..

O exame motor consiste em testes de força muscular em grupos musculares específicos (graduação de zero a cinco, sendo zero ausência total de contração muscular e cinco contração muscular forte o suficiente para gerar movimento na amplitude de movimento completa da articulação contra resistência máxima), teste de força muscular manual de 10 miótomos específicos (lado direito e esquerdo do corpo). Na Figura 6 está apresentada quais as raízes motoras que são testadas, sendo estes músculos elencados por serem inervados ao menos por dois miótomos.

O resultado destes testes dará a classificação da LM pela escala ASIA, que caracteriza a lesão de acordo com sua gravidade em completa - A (ausência total de função motora e sensorial) e incompleta - B,C,D (função motora e/ou sensorial preservada porém com algum grau de anormalidade) e - E (função motora e sensória preservadas).



FIGURA 6 Representação gráfica dos miótomos e segmentos motores testados para a obtenção da classificação neurológica e ASIA.

4.2.3.3 Caracterização da amostra quanto ao nível de AF

Para obter melhor consistência na amostra, foram utilizados os critérios seguidos pelo *American College of Sport and Medicine* (ACSM) e descritos no estudo de Donnelly et al (Donnelly *et al.*, 2009) para a caracterização da amostra quanto ao nível de AF.

Para tanto, indivíduos que praticavam pelo menos 150 minutos por semana de qualquer AF regular, por no mínimo 6 meses de maneira ininterrupta foram

considerados como indivíduos fisicamente ativos. Esta organização dos participantes nos grupos Sedentário (SED) e Fisicamente Ativo (FA) foi realizada para que pudéssemos agendar os dias de avaliações e evitar a espera dos indivíduos nos dias de teste, pois existe diferença em agilidade e recuperação após determinadas atividades que varia muito em tempo, dependendo do nível da LM e da aptidão física. Outro fator que levou os indivíduos a serem classificados pelo nível da LM e nível de AF foi a necessidade para fins estatísticos, pois justamente uma das questões avaliada foi a influência da prática de AF regular para a manutenção da saúde.

4.2.3.4 Coleta e análise de sangue

As recomendações dadas aos participantes referentes a coleta de sangue foram:

- ✓ Na noite anterior ao dia da coleta de sangue eles deveriam começar o jejum, que precisava ser de 12 horas. Portanto, era explicado para cada participante que, se ele se programasse para chegar às 9:00 da manhã, a sua última refeição deveria ser até às 21:00 da noite anterior à coleta.
- ✓ Poderiam tomar água, mas não sucos, chás, refrigerantes, achocolatados ou café.
- ✓ Poderiam tomar os medicamentos de uso contínuo, e que deveriam trazer o nome e a posologia de todos os medicamentos que estavam utilizando.
- ✓ Foi pedido para que os participantes não ingerissem bebidas alcoólicas por, pelo menos, três dias antes da coleta de sangue.

Tipo de coleta e punção sanguínea

A coleta de sangue foi realizada pelo sistema à vácuo de veias do antebraço como cefálica, ulnar mediana ou basilica por profissional capacitado em data e horário que tinham sido previamente agendados com os participantes. Cuidados como curto tempo de garroteamento do membro e homogeneização da amostra por inversão foram realizados a fim de preservar a integridade da amostra e evitar

resultados errôneos. As coletas de sangue eram feitas às sextas-feiras pela manhã. Devido às dificuldades encontradas pelos participantes com LM, eram agendadas de 8 a 10 coletas por manhã entre 7:30 e 10:00.

O diagrama a seguir (Figura 7) demonstra como foi esquematizado o dia de coleta de sangue:

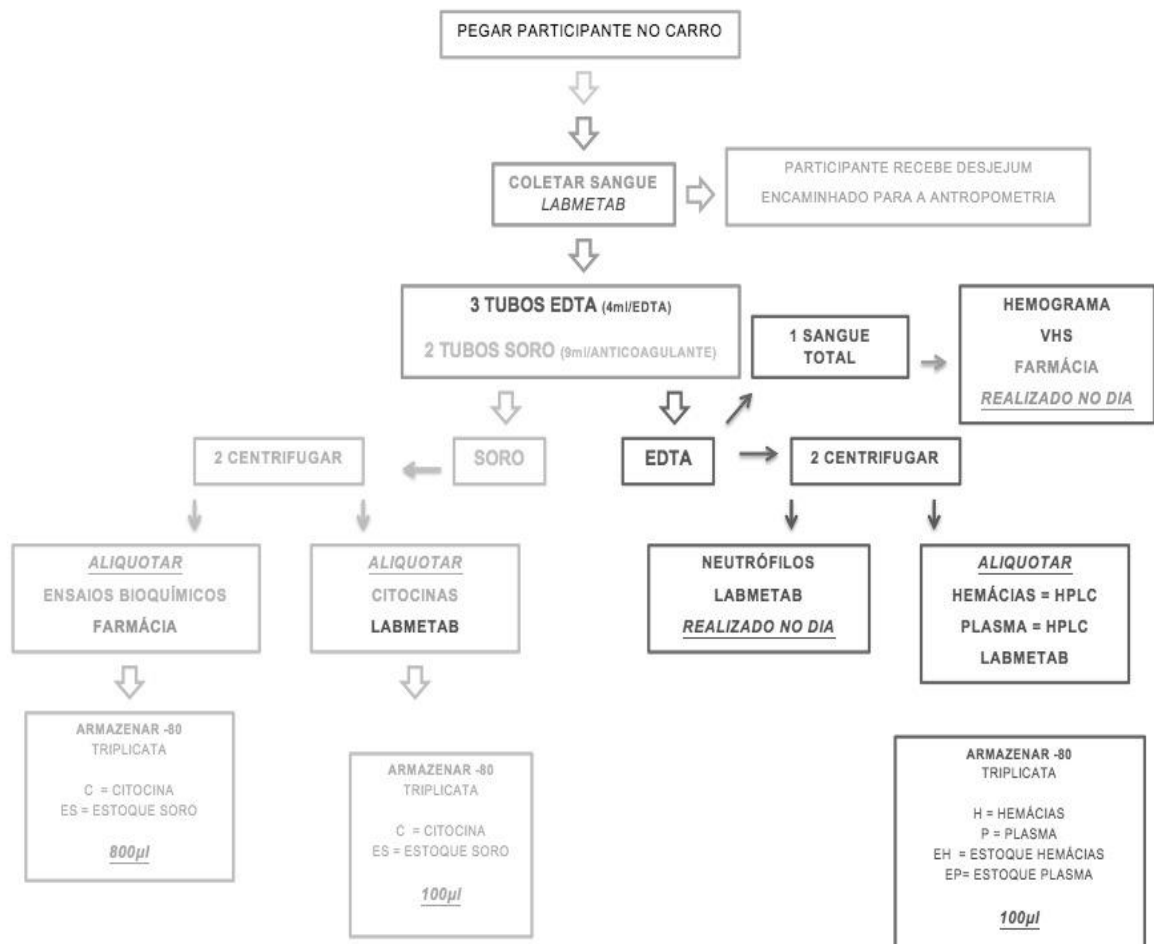


FIGURA 7 Procedimentos de coleta e análise sanguínea.

Os cuidados pré-analíticos citados abaixo foram seguidos em todas as coletas de sangue. A sequência de coleta utilizada foi:

- *Tubos à vácuo de 9ml com gel separador (tampa amarela) para obtenção do soro;*
- *Tubos à vácuo com EDTA de 4ml (tampa roxa) para a obtenção de plasma, hemácias e sangue total.*

O processamento do sangue coletado foi realizado na manhã da coleta e a rotina empregada está descrita a seguir:

Parâmetros bioquímicos

- 1) Os tubos de coleta destinados à determinação dos parâmetros bioquímicos foram centrifugados após a formação de coágulo para a obtenção do soro a 3500 rpm por 15 minutos (Centrífuga Refrigerada - HERMLE Labortechnik GmbH).
- 2) Para que os analitos mantivessem a estabilidade adequada por longos períodos de tempo, as amostras foram aliquotadas e armazenadas em freezer a - 80° C.

Parâmetros hematológicos e velocidade de hemossedimentação (VHS)

- 1) Para a determinação dos parâmetros hematológicos e VHS, as amostras foram coletadas em tubos de 4ml de EDTA para a obtenção do sangue total. Este tubo foi mantido em temperatura entre 4 e 8°C em isopor com gelopack.
- 2) As amostras foram transportadas para o Laboratório Clínico Escola da Universidade Federal do Paraná, onde foram submetidas à homogeneização prévia em homogeneizadores hematológicos por no mínimo 5 minutos antes da fase analítica.
- 3) Para a análise morfológica das células, foram confeccionadas extensões sanguíneas coradas por May-Grunwald Giemsa.

Plasma e Hemácias

- 1) Dois tubos de 4ml de EDTA foram reservados em gelo até a hora da centrifugação.
- 2) Após o término das coletas, estes foram centrifugados a 3500 rpm por 15 minutos.
- 3) Para que as hemácias e o plasma tivessem a estabilidade adequada por longos períodos após aliquotados, foram armazenados no freezer a -80° C.

Armazenamento das amostras

Todas as amostras de sangue que foram coletadas e não utilizadas no mesmo dia foram aliquotadas e armazenadas para futuras dosagens. As amostras coletadas foram etiquetadas com tinta preta, esta medida foi tomada porque outro estudo seria realizado com coleta de sangue e para a segurança na hora de armazenamento cores diferentes foram utilizadas para cada coleta.

Os Microtubos tipo Eppendorf foram etiquetados conforme o uso que seria dado futuramente à amostra (ex. **P** = HPLC PLASMA). Além disto, cada amostra foi armazenada em triplicata (ex. **1P₁ - 1P₂ - 1P₃**), sendo que o número na frente da sigla do material guardado corresponde a um participante (tabela 2). Cada participante recebeu um número no primeiro dia de coleta e o mesmo número foi utilizado em todas as coletas.

TABELA2 Nomenclatura utilizada para o armazenamento do plasma e soro dos participantes do estudo.

*	HPLC PLASMA P	HPLC HEMÁCIAS H	CITOCINAS C	BIOQUÍMICA B
TO	#1P₁ - 1P₂ - 1P₃	1H₁ - 1H₁ - 1H₁	1C₁ - 1C₂ - 1C₃	1B₁ - 1B₂ - 1B₃

*	PLASMA ESTOQUE EP	HEMÁCIA ESTOQUE EH	SORO ESTOQUE ES
TO	1EP₁ - 1EP₂ - 1EP₃	1EH₁ - 1EH₂ - 1EH₃	1ES₁ - 1ES₂ - 1ES₃

TO = TEMPO ZERO = PRIMEIRA COLETA DE SANGUE REALIZADA

Fase analítica

Parâmetros bioquímicos

As amostras foram processadas de 30 em 30 (quantidade máxima de leituras feitas pelo equipamento utilizado). Estas eram retiradas do freezer -80° C às 7h e mantidas sob refrigeração entre 4 e 8°C até o horário da determinação dos analitos, o qual iniciava às 13h.

As análises bioquímicas foram realizadas de maneira automatizada no equipamento LabMax 400® com reagentes Labtest®, seguindo as recomendações do fabricante, no Laboratório Clínico Escola da Universidade Federal do Paraná – Departamento de Análises Clínicas.

Os parâmetros bioquímicos analisados estão relacionados abaixo juntamente com o método utilizado para dosagem:

- Concentração de ácido úrico

A determinação da concentração de ácido úrico plasmático foi realizada pelo método Enzimático-Trinder.

- Concentração de alanina transaminase (ALT)

A determinação da concentração de ALT plasmática foi realizada pelo método Colorimétrico (Verde de Bromocresol).

- Concentração de albumina

A determinação da concentração de albumina plasmática foi realizada pelo método Colorimétrico (Verde de Bromocresol).

- Concentração da aspartato transaminase (AST)

A determinação da concentração de AST plasmática foi realizada pelo método Cinético UV-IFCC.

- Concentração de colesterol total

A determinação da concentração de colesterol total plasmático foi realizada pelo método Colorimétrico (Enzimático de Trinder).

- Concentração de creatina quinase (CK)

A determinação da concentração de CK plasmática foi realizada pelo método Cinético UV-IFCC.

- Concentração de creatinina

A determinação da concentração de creatinina plasmática foi realizada pelo método Colorimétrico (Picrato Alcalino – Jaffé).

- Concentração de glicose

A determinação da concentração de glicose plasmática foi realizada pelo método enzimático-colorimétrico (GOD-Trinder).

- Concentração de HDL (high density lipoprotein) colesterol

A determinação da concentração de HDL colesterol plasmático foi realizada pelo método Colorimétrico (Acelerador – Detergente Seletivo).

- Concentração de LDL (low density lipoprotein) colesterol

A concentração de LDL colesterol plasmático foi estimada de forma indireta pela fórmula de Friedewald: $LDL = \text{colesterol total} - (HDL + TG/5)$.

- Concentração de proteínas totais

A determinação da concentração de proteínas totais plasmáticas foi realizada pelo método Colorimétrico (Biureto).

- Concentração de triglicérides

A determinação da concentração de triglicérides plasmáticos foi realizada pelo método Colorimétrico (Reação de Trinder).

- Concentração de ureia

A determinação da concentração de ureia plasmática foi realizada pelo método Enzimático UV.

Parâmetros hematológicos

- Parâmetros hematológicos

Os dados do eritrograma, contagem de leucócitos e plaquetas foram obtidos em analisador hematológico Micros 45 – Horiba® que utiliza como método de análise celular a impedância elétrica. O diferencial dos leucócitos e a análise morfológica das células foi feita por pesquisador treinado na leitura de lâminas de hematologia sob orientação de professores da área de Análises Clínicas.

4.2.3.5 Medidas Antropométricas

As medidas antropométricas foram realizadas conforme instruções do *Relatório de Uso e Interpretação de Antropometria* da Organização Mundial de Saúde (Expert Committee on Physical Status, 2004; Thompson, P. D. *et al.*, 2013). Adaptações para as mensurações foram necessárias para as avaliações dos participantes com LM, sendo que estas foram embasadas em artigos prévios que trabalharam com esta população (Bauman e Spungen, 2001a; Harvey, L., 2008; Tanhoffer *et al.*, 2012; 2014; Tanhoffer *et al.*, 2015).

Massa corporal

A massa corporal (kg) foi aferida em balança plataforma digital Universal line da marca Digitron, com resolução de 50 gramas e capacidade máxima de 300 kilogramas. Antes da mensuração era pedido para os participantes esvaziarem a bexiga e estivessem vestindo a roupa leve (bermuda e camiseta).

Os participantes andantes retiraram o calçado antes de subir na balança e os participantes lesados medulares além do calçado, foi solicitado que órteses e todos os utensílios que estivessem presos à cadeira de rodas fossem retirados. Foi

também pedido aos lesados medulares que utilizam bolsa coletora de urina que esta fosse esvaziada antes da pesagem, visto que estas bolsas geralmente tem capacidade de armazenar até 2 litros de urina.

Todos os participantes foram pesados na mesma balança, sendo que os do grupo controle foram pesados na posição ortostática, com os braços ao lado do corpo. Os lesados medulares primeiramente foram pesados em sua cadeira de rodas com os braços apoiados nas pernas. Logo após, o participante foi transferido para uma maca baixa posicionada ao lado da balança, a cadeira foi pesada e posteriormente para aquisição do peso real destes participantes o peso da cadeira foi subtraído do peso total (cadeira + avaliado).

Estatura

Devido a impossibilidade de mensuração da estatura dos lesados medulares na posição ortostática, todos os participantes foram medidos em decúbito dorsal. Para que pudéssemos mimetizar a mensuração feita com estadiômetro de parede foram utilizadas duas peças de madeira que ficavam apoiadas na maca e faziam ângulos perpendiculares com a cabeça e a planta do pé do indivíduo deitado. O participante era orientado a deitar-se em decúbito dorsal, logo após a pesagem, portanto sem o calçado e a manter-se com os MMSS (membros superiores) estendidos ao longo do corpo e os MMII (membros inferiores) com os joelhos completamente estendidos e os pés unidos em posição neutra. Uma fita antropométrica era presa à estrutura que estava encostada na cabeça e estendida sem ser esticada demasiadamente até a outra estrutura que estava encostada nos pés.

O mesmo procedimento foi efetuado com os lesados medulares no momento em que eles fizeram a transferência para a maca para pesagem da cadeira. Porém no caso destes indivíduos alguns cuidados foram tomados para que a altura deles fosse corretamente medida pois problemas osteoarticulares comuns após a LM como encurtamentos musculares severos, má postura/escoliose, deformidades de pé e espasmos entre outras complicações secundárias dificultam a mensuração. Nestes casos, uma das avaliadoras posicionava o participante na maca para que ele

ficasse reto e estendia passivamente os MMII até que estes estivessem o mais estendido possível e no caso de disparidade de membros o membro inferior mais longo era mensurado e as alterações osteoarticulares e deformidades eram anotadas, bem como a causa destas.

Circunferências

Foram mensuradas a circunferência abdominal, de quadril e da cintura de acordo com os procedimentos descritos em ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription levando em conta a proposta da IV Diretriz de Dislipidemia (Sposito *et al.*, 2007; Xavier *et al.*, 2013). Para evitar erros de procedimento, todas as mensurações foram realizadas pela mesma avaliadora sendo que cada circunferência foi mensurada três vezes, considerando válido o valor mediano entre elas em centímetros (cm), sendo que as três medidas não deveriam diferir em mais que 5mm entre elas.

A circunferência abdominal (cm) foi medida com auxílio de fita flexível e inextensível, com resolução de 0,1 cm, aplicada acima da crista ilíaca, paralela ao solo, com o indivíduo em pé com pés unidos, abdome relaxado e braços ao longo do corpo nos participantes andantes. Nos participantes com LM, o mesmo procedimento foi feito porém com este deitado em decúbito dorsal, logo após a mensuração da estatura optou-se por refazer as medidas dos voluntários hígidos também em decúbito dorsal. As medidas das circunferências dos hígidos foi comparada e decidiu-se utilizar a mensuração em decúbito dorsal para todos os participantes.

Além da circunferência abdominal foram mensuradas quadril e cintura. Para circunferência do quadril a medida foi obtida ao nível da circunferência máxima das nádegas a qual foi posteriormente utilizada na relação cintura/quadril (C/Q). A medida da região mais estreita do tórax, acima do umbigo e abaixo do processo xifóide foi utilizada para a circunferência da cintura.

Índice de massa corporal

O índice de massa corporal (IMC), também conhecido como Índice de Quetelet, é a relação de peso e altura utilizado para avaliar o risco de obesidade

O IMC, expresso em kg/m^2 , foi calculado, utilizando a fórmula:

$$\text{IMC (kg/m}^2\text{)} = \text{Massa Corporal (kg)} / \text{Estatura}^2 \text{ (m)}.$$

Os pontos de corte propostos pela Organização Mundial da Saúde foram utilizados para a classificação dos participantes (OMS, 2004) (Tabela 3).

TABELA 3 Índice de Classificação Massa Corporal

IMC (kg/m^2)	Classificação
<18,5	Baixo Peso
18,6 – 24,9	Normal
25 – 29,9	Sobrepeso
30 – 34,9	Obesidade – Classe I
35 – 39,9	Obesidade – Classe II
> 40	Obesidade – Classe III

Fonte: Classificação de acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2004)

4.2.4 Análise estatística

Inicialmente os dados foram tratados por meio de estatística descritiva padrão (média e desvio padrão). A distribuição de Skewness testou a normalidade dos dados. Para a comparação dos grupos foi utilizado o teste one-way e as correlações entre os parâmetros analisados foram avaliadas pela Correlação de Pearson. Os testes estatísticos foram executados com o software SPSS® (20,0 IBM®) tendo o nível de significância aceito em $p < 0,05$.

4.3 RESULTADOS

RECRUTAMENTO

Ao todo foram contactados 286 indivíduos do gênero masculino, entre 18 e 50 anos residentes em Curitiba e Região Metropolitana. Destes, 256 faziam parte de fichas cadastrais de clínicas, centros de reabilitação e associações de lesados medue 30 indivíduos sem patologias neurológicas contactaram os pesquisadores após conhecimento do estudo por meio dos cartazes que foram afixados nos locais descritos no capítulo 3.

Os resultados do recrutamento executado para o estudo geral estão descritos na figura 8. Dos 256 LM contactados 163 (63%) declinaram o convite após saberem do que se tratava o estudo, sendo que destes, sete tinham alergia a peixe, 12 tinham menos de um ano de lesão, 53 tinham interesse mas não teriam como participar por falta de transporte e por serem dependentes de auxílio de terceira pessoa.



FIGURA 8 Resultado do recrutamento.

As 91 negativas restantes, tiveram como justificativa que os possíveis efeitos benéficos da suplementação com OP não eram interessantes para estes indivíduos. Quando perguntados o motivo do desinteresse, 60% disseram que só fariam algum tipo de pesquisa se fosse com o intuito de voltar a andar e os demais afirmaram que profissionais da área de saúde tinham explicado que as sequelas da LM não tinham tratamento e que os indivíduos deveriam aprender a conviver com estas.

Dos 88 participantes com LM que aceitaram comparecer no D1 para avaliação de elegibilidade, 59 apresentaram uma ou mais comorbidades que impediam a participação neste estudo. Dentre as comorbidades mais comuns estavam úlcera de pressão infectada (23 indivíduos), problemas cardiovasculares (14 indivíduos) e diabetes melitus (6 indivíduos). Dez indivíduos apresentaram mais de dois critérios de exclusão e seis eram lesados medulares com grau de independência alto, utilizando como principal meio de locomoção muletas ao invés de cadeira de rodas.

Com relação ao grupo de hígidos, 16 declinaram o convite após o primeiro contato por incompatibilidade de horários, quatro não compareceram ao dia marcado e após contato posterior alegaram que decidiram não participar por preocupação em não conseguir honrar com todas as coletas. Portanto, 22 lesados medulares e 10 indivíduos hígidos realizaram as coletas referentes ao primeiro estudo.

Dentre os participantes com lesão medular que foram incluídos no estudo, onze apresentavam tetraplegia e onze paraplegia, sendo que os dados epidemiológicos dos grupos avaliados estão descritos na Tabela 4.

TABELA 4 Parâmetros epidemiológicos dos participantes hígidos e lesados medulares (LM) incluídos no Estudo1. Os participantes foram divididos em sedentários (SED) e fisicamente ativos (FA) quanto ao nível de Atividade Física.

Participante	Idade	Grupo	Tipo de Lesão	Tempo Lesão	Nível LM	Severidade	Etiologia	Nível Atividade Física
1	45	LM	tetraplégico	18	C7-T1	completa	acidente automobilístico	SED
2	25	hígido	–	–	–	–	–	FA
3	27	hígido	–	–	–	–	–	SED
4	33	LM	paraplégico	9	T10-T11	completa	ferimento por arma de fogo	FA
5	38	hígido	–	–	–	–	–	FA
6	28	LM	paraplégico	7	T7-T8	completa	acidente automobilístico	SED
7	42	LM	paraplégico	15	T12 - L1	completa	acidente automobilístico	FA
8	32	LM	tetraplégico	14	C6-C7	incompleta motora	acidente automobilístico	FA
9	55	LM	paraplégico	26	T10-T11	completa	acidente automobilístico	FA
10	37	hígido	–	–	–	–	–	SED
11	44	LM	paraplégico	6	T5-T6	completa	acidente automobilístico	SED
12	46	LM	paraplégico	12	T4-T5	completa	acidente automobilístico	FA
13	25	LM	tetraplégico	13	C7-T1	incompleta sensitiva	ferimento por arma de fogo	SED
14	26	LM	paraplégico	11	T9-T10	completa	ferimento por arma de fogo	FA
15	27	LM	paraplégico	9	T4-T5	completa	acidente de motocicleta	FA

Continuação TABELA 4

Participante	Idade	Grupo	Tipo de Lesão	Tempo Lesão	Nível LM	Severidade	Etiologia	Nível Atividade Física
16	36	hígido	–	–	–	–	–	SED
17	53	hígido	–	–	–	–	–	SED
18	22	hígido	–	–	–	–	–	SED
19	40	LM	tetraplégico	21	C5-C6	incompleta sensitiva	acidente automobilístico	SED
20	25	LM	tetraplégico	4	C4-C6	completa	acidente automobilístico	SED
21	34	LM	tetraplégico	18	C4-C6	completa	mergulho em água rasa	SED
22	26	LM	paraplégico	4	T6-T7	completa	acidente de motocicleta	SED
23	43	LM	tetraplégico	25	C5-C7	completa	acidente automobilístico	SED
24	31	LM	paraplégico	10	T7-T8	completa	ferimento por arma de fogo	SED
25	29	hígido	–	–	–	–	–	FA
26	53	LM	tetraplégico	7	C5-C6	completa	acidente automobilístico	SED
27	31	LM	tetraplégico	6	C3-C4	incompleta motora	acidente automobilístico	SED
28	50	hígido	–	–	–	–	–	SED
29	26	LM	paraplégico	7	T6-T7	completa	ferimento por arma de fogo	AF
30	22	LM	tetraplégico	2	C6_C7	incompleta motora	queda do mesmo nível	SED
31	22	hígido	–	–	–	–	–	SED
32	43	LM	tetraplégico	19	C4-C5	incompleta sensitiva	mergulho em água rasa	SED

Quanto à etiologia da LM (Figura 9), 60% das lesões foram decorrentes de acidentes automobilísticos, das quais sete resultaram em tetraplegia e cinco em paraplegia. A segunda maior causa de LM foi ferimento por arma de fogo (20% dos casos) sendo que destes 4 resultaram em paraplegias e um em tetraplegia.

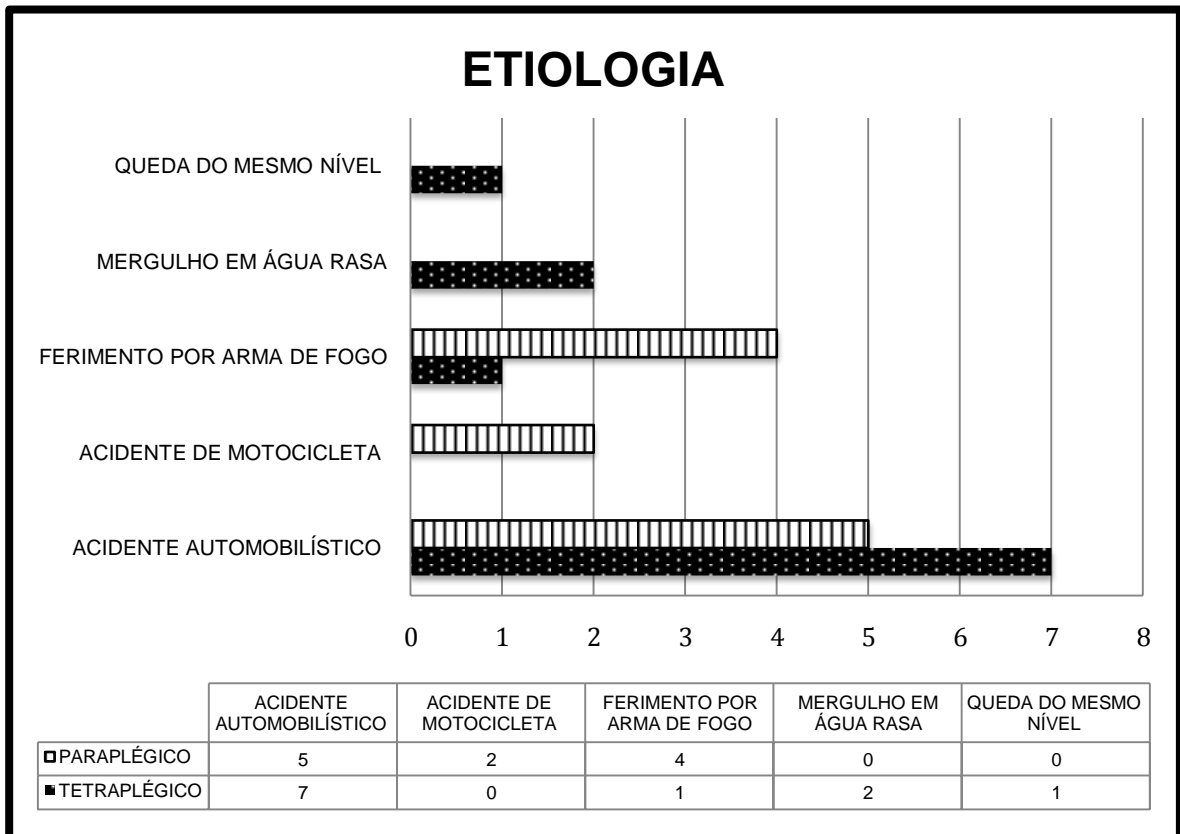


FIGURA 9 Análise etiológica das LM.

Outra característica verificada nas avaliações do D1 foi o nível de AF (Figura 10), sendo que nesta amostra, 90% dos tetraplégicos, 70% dos hígidos e menos de 40% dos paraplégicos foram classificados como sedentários.

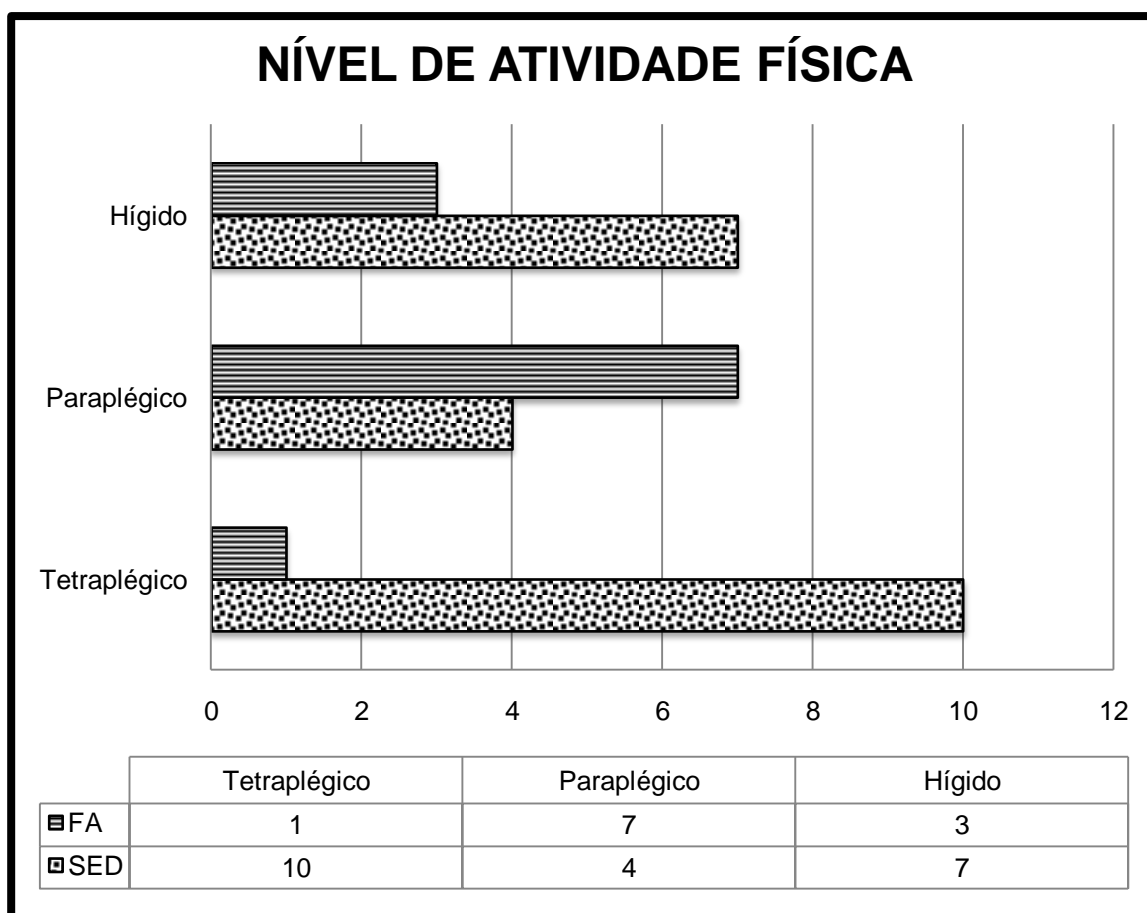


FIGURA 10 Análise do nível de atividade física dos indivíduos de acordo com os critérios seguidos pelo *American College of Sport and Medicine* (ACSM) e descritos no estudo de Donnelly et al (Donnelly et al., 2009). Nota: FA: Fisicamente Ativos; SED: Sedentários.

Com relação ao biotipo da amostra, nossos dados indicaram que não houve diferença significativa nos dados antropométricos, quando divididos em grupos (hígido, paraplégico ou tetraplégico) (Tabela 5) ou em nível de atividade física (fisicamente ativos ou sedentários) (Figura 11).

TABELA 5 Parâmetros antropométricos dos participantes hígidos e lesados medulares (LM) incluídos no Estudo 1.

Grupo	Idade (anos)	Estatura (cm)	Massa Corporal (kg)	IMC (kg/m ²)	Cintura (cm)	Quadril (cm)	Abdominal (cm)	RCQ
Hígido (10)	33,9±11,0	174,3±4,7	84,3±18,4	28±5,6	89,2±16,8	101,4±10,9	93,2±31,5	0,9±0,09
Para (11)	34,6±10,5	171,5±5,0	69,4±12,6	23,7±4,3	81,4±9,3	89,7±6,4	84,2±12,7	0,9±0,06
Tetra (11)	36,1±9,3	174,1±11,5	73,4±20,9	24,0±5,2	92,2±14,5	98,3±11,0	99,3±12,0	0,9±0,08

Os valores representam média ± DP. Nota: IMC: Índice de Massa Corporal; RCQ: Relação Cintura Quadril; Para: Paraplégico; Tetra: Tetraplégico.

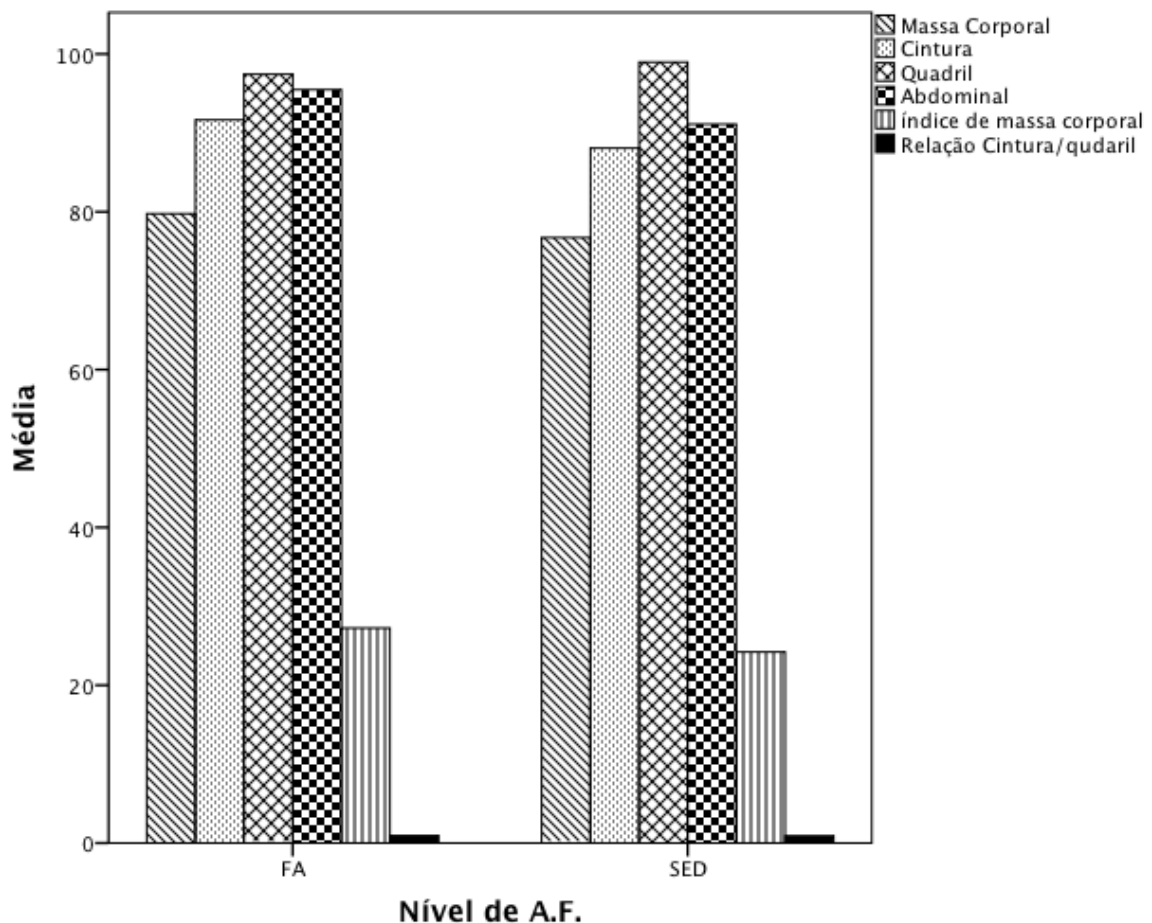


FIGURA 11 Representação gráfica dos dados antropométricos avaliados com relação ao nível de atividade física (A.F.), os participantes foram distribuídos em grupo Fisicamente Ativo (FA) e sedentário (SED). Nota: Os dados estão expressos em média, sendo a massa corporal expressa em kg, o índice de massa corporal em kg/m², circunferências de cintura, quadril e abdominal em cm.

Aanálise de correlação dos dados antropométricos foi realizada para cada um dos grupos sem divisão destes quanto ao nível de AF (TABELA 6).

TABELA 6 Relação entre os parâmetros antropométricos dos participantes separados em hígidos, paraplégicos e tetraplégicos.

		Cintura	Quadril	Abdominal	IMC	RCQ
HÍGIDOS (10)	Massa Corporal	0,922**	0,948**	0,862*	0,968**	
	IMC	0,960**	0,935**	0,891**		0,761*
	RCQ	0,880**		0,814*		
	Cintura		0,866*	0,967**		
	Quadril			0,857*		
LM PARAPLEGIA (11)	Massa Corporal	0,779*	0,827*		0,962**	
	IMC	0,861**	0,720*			
	RCQ					
	Cintura		0,803*			
LM TETRAPLEGIA (11)	Massa Corporal	0,915**	0,791**	0,933**	0,926**	0,702*
	IMC	0,884**	0,691*	0,874**		0,776**
	RCQ	0,810**		0,852**		
	Cintura		0,859**	0,995**		0,810**
	Quadril			0,844**		

Correlação de Pearson * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. Nota: IMC: Índice de Massa Corporal; RCQ: Relação Cintura Quadril; LM: Lesão Medular.

Grupo Hígido - 10 indivíduos

Entre os dados antropométricos averiguados a massa corporal obteve relacionamento positivo com as circunferências de cintura $r = 0,92$, quadril $r = 0,95$, abdominal $r = 0,86$, IMC $r = 0,97$ sendo onível de significância $p < 0,01$, exceto para circunferência abdominal $p < 0,05$. O IMC demonstrou-se positivamente correlacionado com as circunferências de cintura $r = 0,96$, quadril $r = 0,93$, abdominal $r = 0,89$ com nível de significância $p < 0,01$ e RCQ $r = 0,76$ ($p < 0,05$).

Além da correlação positiva com IMC, RCQ estava correlacionado positivamente com as circunferências de cintura $r = 0,88$ ($p < 0,01$) e abdominal $r = 0,81$ ($p < 0,05$). Verificou-se também neste grupo a correlação positiva da circunferência de cintura com quadril $r = 0,87$ ($p < 0,05$) e abdominal $r = 0,97$ ($p < 0,01$).

Grupo LM - Paraplegia - 11 indivíduos

Verificou-se neste grupo que a massa corporal estava correlacionada significativamente com as circunferências de cintura $r = 0,79$ e quadril $r = 0,83$ ambos com nível de significância $p < 0,05$ e IMC $r = 0,96$ ($p < 0,01$).

Além da correlação positiva com a massa corporal, o IMC também estava correlacionado positivamente com as circunferências de cintura $r = 0,86$ ($p < 0,01$) e quadril $r = 0,72$ ($p < 0,05$). Por fim, a outra correlação positiva apresentada nos dados analisados foi de $r = 0,80$ com nível de significância $p < 0,05$ entre as circunferências de cintura e quadril.

Grupo LM - Tetraplegia - 11 indivíduos

A massa corporal obteve relacionamento positivo com as circunferências de cintura $r = 0,91$, quadril $r = 0,79$, abdominal $r = 0,93$, IMC $r = 0,93$ com nível de significância $p < 0,01$ e RCQ $r = 0,70$ ($p < 0,05$).

O IMC neste grupo demonstrou-se positivamente correlacionado com as circunferências de cintura $r = 0,88$ ($p < 0,01$), quadril $r = 0,69$ ($p < 0,05$), abdominal $r = 0,87$ ($p < 0,01$) e RCQ $r = 0,77$ ($p < 0,01$).

A RCQ também relacionou-se positivamente com as circunferências de cintura $r = 0,81$ e abdominal $r = 0,85$ ambas com $p < 0,01$. Verificou-se também neste grupo a correlação positiva da circunferência de cintura com quadril $r = 0,86$ ($p < 0,01$) e abdominal $r = 0,99$ ($p < 0,01$) e entre as circunferências de quadril e abdominal $r = 0,84$ ($p < 0,01$).

Parâmetros hematológicos

Eritrograma

Para análise dos resultados do eritrograma foram verificadas a média e desvio padrão de cada grupo separadamente (Tabela 7).

TABELA 7 Resultado da análise do Eritrograma

	Eritrócitos (.106/mm ³)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)	RDW (%)
Hígido	5,0±0,38	15,4±0,86	44,4±2,68	87,6±2,46	30,3±0,71	35,5±2,92	12,4±0,72
Para	4,9±0,38	14,4±1,31	41,9±3,72	84,8±4,49	29,1±2,02	34,4±0,98	12,9±0,74
Tetra	4,9±0,42	14,1±1,15	41,6±3,41	85,5±5,63	29,1±1,84	34,0±0,73	13,0±1,18

Os valores representam a média ± DP. Nota: VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração de Hemoglobia Corpuscular Média, RDW: Índice de Variação de Tamanho de Células Vermelhas

Dentre os parâmetros do eritrograma, exceto pelos resultados de CHCM e RDW ($p < 0,05$), a normalidade foi confirmada pela não significância do teste estatístico de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade pelo teste de Levene.

A ANOVA one-way foi realizada para os resultados paramétricos e nenhuma diferença significativa foi encontrada. Para análise estatística dos resultados de CHCM e RDW, foi aplicado o teste estatístico de Kruskal-Wallis que não foi significativo para nenhum dos parâmetros ($p > 0,05$).

Plaquetas

A média também foi utilizada para a análise descritiva dos resultados referentes às plaquetas (Tabela 8).

A análise de normalidade e homogeneidade dos resultados das plaquetas não foi significativa, portanto, foi aplicada ANOVA one-way para os parâmetros não obtendo diferença significativa alguma entre os grupos analisados ($p > 0,05$).

TABELA 8 Resultado de contagem de plaquetas

	Plaquetas (.103/mm ³)	Volume Plaquetário (fL)	Distribuição de Plaquetas (%)
Hígido	235,3±43,6	8,4±0,5	15,6±1,1
Para	247,82±50,2	8,3±0,6	16,1±1,4
Tetra	214,00±36,5	8,4±0,5	16,1±1,1

Os valores representam a média ± DP. Nota: Para: Paraplégico; Tetra: Tetraplégico

Leucograma

Os dados do leucograma não apresentaram significância aos testes de normalidade e homogeneidade, portanto foi utilizado ANOVA one-way para verificar se existiam diferenças significativas entre os dados de cada grupo. As diferenças encontradas nos valores analisados tanto com a amostra separada por grupos quanto pelo nível de AF não foram significativas ($p>0,05$) (Tabela 9). Portanto, não há, aparentemente nenhuma alteração inflamatória sistêmica na amostra estudada.

TABELA 9 Resultado da análise do Leucograma

	Valores de referência	Hígido	Paraplégico	Tetraplégico
Leucócitos	3,9 - 10,9 (.103/mm ³)	6,5±0,9	6,9±1,5	6,1±0,8
Monócitos	3 - 12 (%)	6,5±2,7	5,8±2,7	5,4±2,5
Segmentados	(%)	49,3±17,4	51,4±11,8	55,1±7,4
Bastonetes	11 (%)	2,6±1,3	2,4±3,1	3,4±2,1
Eosinófilos	1 - 13 (%)	3,5±5,8	2,1±1,9	5,1±3,2
Basófilos	0 - 2 (%)	1,6±1,4	0,5±0,5	1,0±0,7
Linfócitos	19 - 49 (%)	35,1±12,1	36,1±10,1	29,6±7,2
Linfócitos Atípicos	(%)	1,4±2,8	1,2±2,2	0,2±0,6

Os valores representam a média ± DP.

Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos foram verificados para normalidade pelo teste estatístico Kolmogorov-Smirnov, nenhum parâmetro examinado obteve significância.

A média \pm DP dos parâmetros estão apresentados na tabela 10, estes foram divididos pelos grupos Hígido, Paraplégico e Tetraplégico.

TABELA 10 Resultado da análise dos parâmetros bioquímicos

	Valores de referência	Hígido	Paraplégico	Tetraplégico
ALT (U/L)	11 - 45	29,7 \pm 14,9	20,6 \pm 4,9	22,8 \pm 17,2
AST (U/L)	11 - 39	31,6 \pm 9,5	31,3 \pm 12,4	23,2 \pm 6,1
Uréia UV(mg/dL)	15 - 45	23,3 \pm 5,2	23,5 \pm 4,9	22,12 \pm 4,8
Creatinina K (mg/dL)	0,70 - 1,20	1,2 \pm 0,1	0,9 \pm 0,2	1,0 \pm 0,9*
Albumina (g/dL)	2,9 - 4,7	4,5 \pm 0,2	4,1 \pm 0,3*	4,0 \pm 0,4*
Proteína Total (g/dL)	6,0 - 8,0	7,8 \pm 0,4	7,6 \pm 0,7	7,2 \pm 0,5*
CK NAC Liq (U/L)	26 - 189	124,1 \pm 48,9	231,1 \pm 135,6	124,3 \pm 133,4
Colesterol Liq (mg/dL)	200	178,1 \pm 28,1	168,2 \pm 27,6	168,3 \pm 44,3
Glicose liq (mg/dL)	65 - 99	90,5 \pm 6,1	86,5 \pm 7,4	82,8 \pm 11,0
Triglicerídeos(mg/dL)	150	129,4 \pm 103,8	91,7 \pm 49,6	109,4 \pm 75,8
Ácido úrico(mg/dL)	2,5 - 7,0	5,3 \pm 1, 1	4,8 \pm 0,5	4,7 \pm 1,07
HDL LE (mg/dL)	60	50 \pm 11,5	41,6 \pm 6,1	40,2 \pm 5,8*
LDL Calculado (mg/dL)	100 - 129	101,7 \pm 28,9	104,7 \pm 23,6	112,7 \pm 32,9

Os valores representam a média \pm DP,* p<0.05

Nota: ALT: alanina transaminase; AST: aspartato transaminase; CreatininaK: Creatinina Quinase; HDL: High Density Lipoprotein colesterol; LDL: Low Density Lipoprotein-Colesterol

Com a aplicação do teste estatístico ANOVA one-way obteve-se significância na concentração dos parâmetros abaixo relatados:

A concentração sérica da Creatinina K no grupo dos hígidos apresentou diferença na média de 0,262mg/dL acima da encontrada no grupo Tetra F(2,26)= 5,03 p< 0,05. A concentração sérica da Albumina no grupo dos hígidos também mostrou-se 0,416g/dL acima da encontrada no grupo Para e 0,532g/dL acima dos valores do grupo Tetra F(2,29) = 0,81 p< 0,05. Já a Proteína Total do grupo Hígido estava 0,617 acima do verificado no grupo Tetra F(2,28)= ,37 p< 0,05, enquanto a concentração de HDL LE apresentou elevação de 9,73mg/dL quando comparada à encontrada nos tetraplégicos F(2,29)= 4,37 p< 0,05.

4.4 DISCUSSÃO

A hipótese central deste estudo foi de que os participantes com LM apresentariam maiores comprometimentos nos parâmetros analisados do que o grupo hígido, que foi utilizado como controle.

Primeiramente, apesar dos resultados do recrutamento dos indivíduos com LM não ter sido um dos objetivos de investigação deste estudo, após análise destes dados este demonstrou-se um ponto importante a ser pesquisado a fim de traçar metas para que a participação e engajamento de lesados medulares aumente, seja em atividades voltadas à saúde, recreativas ou esportivas. A grande porcentagem de indivíduos contactados que declinaram o convite é semelhante à encontrada em estudos realizados em outros países, sendo que tanto a quantidade quanto os motivos de recusa são semelhantes (Canupp *et al.*, 1997; Bampi *et al.*, 2008; Bassett e Martin Ginis, 2009). A amostra da população com LM de Curitiba e Região Metropolitana contactada para este estudo demonstrou quão difícil é mobilizar estas pessoas para a realização de qualquer atividade que necessite deslocamento de sua residência para outro local, o que confirma dados mundiais que colocam a dificuldade de locomoção independente como um dos pontos de maior preocupação em países em desenvolvimento (Hetz *et al.*, 2009; Hetz *et al.*, 2011; Dolbow e Gorgey, 2016). Outro fator que deve ser levado em conta foram as justificativas dadas pelos convidados para a não participação no projeto, sendo que a não aceitação da LM e a falta de entendimento sobre a patologia e suas comorbidades são características encontradas em locais onde o processo de reabilitação é curto ou inexistente e a abordagem da lesão medular pelos profissionais da área de saúde não é realizada de forma objetiva e clara.

A etiologia das LM e parâmetros epidemiológicos relacionados à LM encontradas na amostra que foi estudada seguem a tendência mundial explicada pela crescente violência no trânsito (Barros Filho *et al.*, 1990; Cardenas, Bryce, *et al.*, 2004; Chamberlain *et al.*, 2015). A faixa etária e o gênero também são características que continuam sendo mantidas durante os últimos 30 anos (Palma *et al.*, 1992; Sekhon e Fehlings, 2001). Vale ressaltar que em países desenvolvidos está ocorrendo alteração na etiologia e faixa etária comprometida pela LM, pois

devido ao envelhecimento da população, os casos de LM causados por queda no mesmo nível em idosos está crescendo de maneira abrupta (Bellucci *et al.*, 2015).

A caracterização da amostra quanto ao nível de AF corroborou os dados de estudos realizados em outros países, comprovando a tendência à inatividade física em indivíduos com maior comprometimento devido a LM (Bassett e Martin Ginis, 2009; Hetz *et al.*, 2009; Jetha *et al.*, 2011).

Quanto aos parâmetros antropométricos, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos estudados. Isto pode ter ocorrido devido à homogeneidade da amostra e pela alta margem do desvio padrão dos dados.

Com relação ao hemograma, observou-se diferenças significativas entre os grupos analisados corroborando dados de estudos realizados em países da América do Norte (Bauman e Spungen, 2000; Krassioukov *et al.*, 2003; Sadowska-Krepa *et al.*, 2015).

Dentre os parâmetros bioquímicos analisados, exceto pelo lipidograma, os resultados estão dentro dos valores de referência utilizados. Isto está de acordo com estudos que enfatizam que alterações em parâmetros de creatinina e uréia utilizados para estudo de função renal quando apresentam alterações na população com LM pertencem a casos específicos de comorbidades relacionadas à bexiga neurogênica e ao mal procedimento de cateterismo, ou à infecções urinárias de repetição que podem causar a longo termo distúrbios renais (Pannek, Gocking, *et al.*, 2009; Pannek, Kullik, *et al.*, 2009). A diferença significativa que aponta para o aumento da creatinina nos hígidos pode estar relacionada com o fato de que os quatro participantes com este parâmetro aumentado também apresentaram aumento nas concentrações de AST e creatina quinase, sendo que quando alterados concomitantemente estão associados ao dano muscular devido a exercício físico (Ainsworth *et al.*, 2000; Haskell *et al.*, 2007; Thompson, P. D. *et al.*, 2013). Confirmando esta associação, estes quatro indivíduos hígidos estavam alocados no grupo dos fisicamente ativos e tinham relatado prática de exercícios intensos antecedendo o dia da coleta de sangue.

A função hepática também não apresentou alterações entre os grupos e foi verificada devido ao uso excessivo de medicamentos para as comorbidades da LM, principalmente antiespasmódicos, anticolinérgicos e antibióticos.

A concentração de albumina e a de proteína total foram avaliadas como critérios de estado nutricional, sendo que estes parâmetros foram investigados em outros estudos como preditores de mortalidade na LM aguda (fase hospitalar) e da propensão ao aparecimento de úlceras de pressão (Frankenfield, 2006; Wong *et al.*, 2013; Wong *et al.*, 2014). A concentração de albumina estava significativamente abaixo dos valores encontrados nos hígidos, tanto em tetraplégicos quanto em paraplégicos, porém continuava na faixa dos valores de referência considerados como normais (2,9 - 4,7g/dL). Contudo, algumas pesquisas em doenças crônicas com perda de massa magra caracterizada como extrema, insuficiência renal e hepática utilizaram valor de referência limítrofe para albumina como sendo de 3,5g/dL. Contudo, na nossa amostra o valores da albumina continuam dentro da normalidade mesmo utilizando o valor de referência de 3,5g/dL. Vale ressaltar que os critérios de exclusão utilizados para este estudo delimitaram a presença de comorbidades que pudessem apresentar diminuições significativas de albumina.

O lipidograma (Tabela 10) não demonstrou diferenças significativas entre os grupos apesar de alguns participantes apresentarem alterações importantes. Levando em conta o número da amostra ser reduzido e os desvios padrões aumentados entende-se a não significância destas alterações, portanto, estes dados serão analisados separadamente no *Estudo 3 - Capítulo 6*.

Vale ressaltar que os critérios de exclusão utilizados acabaram por influenciar na ausência de alterações significativas nos exames de sangue analisados, sendo que hipoteticamente se os critérios de exclusão fossem alterados a amostra teria aumentado significativamente levando em conta que 38 indivíduos foram excluídos por apresentarem úlcera de pressão e problemas cardiovasculares que são as comorbidades mais comuns em lesados medulares juntamente com as infecções urinárias (Anson e Shepherd, 1996; Noreau *et al.*, 2000; Cobb *et al.*, 2014).

Portanto não foram encontradas grandes alterações entre os parâmetros analisados neste estudo. Uma possível explicação para este fato, seria que os parâmetros hematológicos e bioquímicos dos indivíduos excluídos deste estudo apresentariam um perfil completamente diferente do encontrado, corroborando com pesquisas com critérios de inclusão mais flexíveis os quais encontraram alterações significativas em indivíduos com LM.

4.5 CONCLUSÃO

Observou-se neste estudo que o nível de AF estava relacionado ao nível e severidade da LM sendo confirmada a hipótese 1, por outro lado, a hipótese 2 foi rejeitada por não ter havido correlação dos parâmetros antropométricos com nível da LM.

A hipótese 3 sugeria que os parâmetros bioquímicos plasmáticos apresentariam correlação com nível da LM, sendo que esta pôde ser aceita em partes, pois ocorreram algumas relações com o nível da LM porém não foram fortemente correlacionadas.

A hipótese 4 e 5 foram rejeitadas pois os parâmetros bioquímicos plasmáticos não apresentaram correlação com severidade da LM e a relação com o nível de AF não pode ser analisado pelo baixo número de indivíduos em cada grupo.

CAPÍTULO 5

ESTUDO 2

AVALIAÇÃO DO SISTEMA NEUROMUSCULAR

5. AVALIAÇÃO DO SISTEMA NEUROMUSCULAR E OSTEOARTICULAR DE INDIVÍDUOS COM LM EM CURITIBA E REGIÃO METROPOLITANA

5.1 INTRODUÇÃO

Os problemas osteoarticulares em membros superiores são frequentes, portanto é fundamental ser realizada avaliação do sistema neuromuscular com o intuito de verificar a integridade osteoarticular e a qualidade da contração muscular de MMSS tanto no grupo de LM quanto no grupo hígido.

Estudos revelaram que após cinco anos de uso de cadeira de rodas para locomoção, indivíduos com LM começam a apresentar problemas ortopédicos de ombro. Estas alterações ortopédicas que induzem a dor e limitação de função podem ter relação com tempo e nível de lesão, bem como idade do indivíduo e a forma como esta pessoa foi reabilitada. Biomecanicamente, os ombros passam a ter sua função modificada pela necessidade de impulsionar a cadeira de rodas e de realizar transferências para locais de mesma altura ou até mesmo mais altos. Outro ponto que deve ser levado em conta é que estes indivíduos utilizam de maneira constante parte da musculatura que forma o manguito rotador, o que faz com que ocorra um desequilíbrio de forças nos MMSS tendendo a sobrecarregar os músculos adutores e rotadores de ombro e fazendo com que os estabilizadores da escápula tornem-se muito fracos. Com o decorrer dos anos, se esta musculatura não é trabalhada de forma correta e integrada com fortalecimento e alongamento adequado, além dos problemas osteoarticulares em ombro podem ocorrer alterações posturais que diminuem funcionalidade e muitas vezes causam dor (Lee e McMahon, 2002; Bjerkefors *et al.*, 2006; Tederko *et al.*, 2009).

Outro fator que leva ao aumento nas patologias ortopédicas nos lesados medulares é a alteração nas propriedades da contração muscular, que pode ocorrer dependendo do nível e severidade da LM, fazendo com que ocorra diminuição de força muscular de determinados músculos, perda ou alteração de sensibilidade e, conseqüentemente, perda das propriedades cinestésicas das articulações dos membros afetados pela LM (Proske e Proske, 2006). Estes distúrbios neuromusculares podem acarretar desequilíbrio das forças entre os grupos

musculares de um mesmo membro como também de um hemicorpo em comparação ao outro, portanto, tem-se propensão ainda maior a ocorrer distúrbios osteomusculares que causam diminuição de amplitude de movimento (ADM) e de força, dor e deformidades estruturais de membros e coluna vertebral (Gutierrez *et al.*, 2004; Cobb *et al.*, 2014; Akbar *et al.*, 2015).

Quando se classifica os indivíduos pelo nível e severidade da LM, de forma simplificada pode-se relacionar a diminuição ou ausência de estímulo nervoso com a diminuição da área de secção transversa da musculatura e consequentemente redução da capacidade de gerar força e manter movimentos de músculos isolados (Thomas *et al.*, 2014). Esta diminuição na capacidade de produzir força está diretamente correlacionada à diminuição de funcionalidade e consequente diminuição do nível de AF, o que como visto na revisão de literatura, aumenta os custos da saúde pública e diminui a qualidade de vida do indivíduo (Jacobs *et al.*, 2004; Groah *et al.*, 2009).

Portanto, a avaliação da produção de força torna-se na LM um método investigativo de verificação das limitações funcionais. Uma das alternativas para esta averiguação é a utilização da Contração Isométrica Voluntária Máxima (CIVM) como forma de avaliar produção de força pela dinamometria e ativação muscular pela eletromiografia (EMG). Estes dados podem ser utilizados por profissionais da saúde na melhora de capacidade funcional, prevenção de lesões e aumento de desempenho desportivo (Buchanan *et al.*, 1989; Caldwell e Van Leemputte, 1991; Calancie *et al.*, 2002).

A análise da força pela dinamometria (permite a mensuração da força aplicada a um sistema de célula de carga) pode ser realizada de várias formas, as quais estão relacionadas à questão a ser respondida e ao tipo de equipamento utilizado para isto. No caso deste estudo, a questão norteadora desta análise focalizou em avaliar a quantidade de força que pode ser produzida em uma CIVM e compará-la entre indivíduos que têm comprometimento neural central (lesão na medula) e aqueles que têm esta função íntegra. A CIVM também foi escolhida por produzir menores alterações na captação dos sinais da eletromiografia de superfície (EMG).

Basicamente existem três dimensões que podem ser analisadas com a EMG: amplitude, tempo e espectro de potência (valores de frequência mediana). Cada uma destas dimensões pode ser utilizada para analisar parâmetros específicos, sendo que:

- análise da amplitude do sinal avalia (I) o nível de atividade elétrica do músculo em repouso, que deveria ser abaixo de 5 μ V em indivíduos sem distúrbios neuromusculares; (II) Média da força em uma contração, sendo este bom indicador para a força muscular em uma CIVM; (III) força máxima ou pico de força; (IV) Variabilidade da amplitude do sinal, que pode ser interpretada com a estabilidade neuromuscular; e (V) Área ou integral do EMG que corresponde à área embaixo da curva em um determinado período de tempo (isto é considerado bom indicador de quanta energia foi produzida durante o período selecionado).
- Análise temporal verifica (I) tempo de ativação que mede quanto tempo levou para o músculo se contrair e (II) o tempo de desativação que verifica o tempo que um músculo em contração demora para voltar ao estado de repouso após a ordem de relaxamento.
- Análise espectral que avalia as frequências médias e medianas de uma CIVM, sendo este parâmetro utilizado como uma das formas de avaliar fadiga muscular.

Portanto levando em conta os objetivos desta análise, o músculo bíceps braquial foi elencado para a realização dos testes por ser um músculo que anatomicamente tem as suas fibras paralelamente alinhadas e os pontos motores mais agrupados do que em outros músculos, além de teoricamente estar íntegro em todos os participantes deste estudo.

5.1.1 Objetivo geral

Verificar a integridade osteoarticular de MMSS bem como a capacidade de produção de força e torque do músculo bíceps braquial bilateralmente, tanto em indivíduos com LM quanto em indivíduos sem distúrbios neurológicos. Analisar e comparar os resultados encontrados entre os grupos e verificar se fatores como idade, aptidão física, nível e severidade da LM influenciam os parâmetros avaliados.

5.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar atividade elétrica do músculo bíceps em repouso, produção de força, e dados eletromiográficos correlacionados de cada participante e compará-los entre grupo LM e Hígido.
- Avaliar pico de torque dos participantes e compará-los entre lesados medulares e hígidos.
- Verificar relação entre pico de torque e nível de AF, tempo de lesão, nível e severidade de LM.
- Comparar ativação voluntária do bíceps braquial entre LM e hígidos.
- Verificar relação entre ativação voluntária do bíceps braquial e nível de AF, tempo de lesão, nível e severidade de LM.
- Verificar relação entre circunferência de bíceps braquial relaxado e contraído com pico de torque e ativação voluntária do bíceps braquial.
- Verificar relação entre nível de AF, produção de torque do bíceps braquial, ativação voluntária desta musculatura, idade, circunferência de bíceps braquial relaxado e contraído.
- Comparar o teste de fadiga entre lesados medulares e hígidos.
- Verificar relação entre nível de AF, idade, circunferência de bíceps braquial relaxado e contraído com fadiga.

5.1.3 Hipóteses

- H1. A força epico de torque será maior nos participantes hígidos do que nos lesados medulares.
- H2. O pico de torque será menor quanto maior a idade, tempo de lesão, nível e severidade da LM.
- H3. O tempo de ativação e desativação do músculo em uma CIVM será maior nos indivíduos com LM.
- H4. Ativação voluntária do bíceps braquial será menor entre LM que entre hígidos.
- H5. A fadiga será menor nos participantes hígidos quando comparados com os lesados medulares tetraplégicos.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Participantes do estudo

Os participantes recrutados para este estudo fazem parte do recrutamento descrito na seção 3.1 do Capítulo 3. Porém, foi necessário estabelecer novos critérios de exclusão devido a especificidade do teste realizado.

Participantes que apresentaram um ou mais critérios abaixo descritos foram excluídos deste estudo:

- Radiculopatias de MMSS;
- Alterações osteoarticulares impeditivas de manutenção da posição do teste;
- Impossibilidade de manutenção da flexão de 90° do cotovelo voluntariamente;
- Espasmos em MMSS;

5.2.2 Procedimentos gerais

Os participantes que realizaram os testes do D2 e que apresentaram as condições necessárias para a realização do protocolo do dia 3 foram convidados a participar. Desta forma, o teste foi marcado conforme a conveniência do participante. A figura 12 resume os procedimentos que foram realizados no D3.

Recomendações

Antes de iniciar o procedimento todos os participantes receberam instrução de familiarização que consistiu em explicar qual a finalidade do teste além de demonstrá-lo e por fim ensinar o participante qual deveria ser a sua conduta.

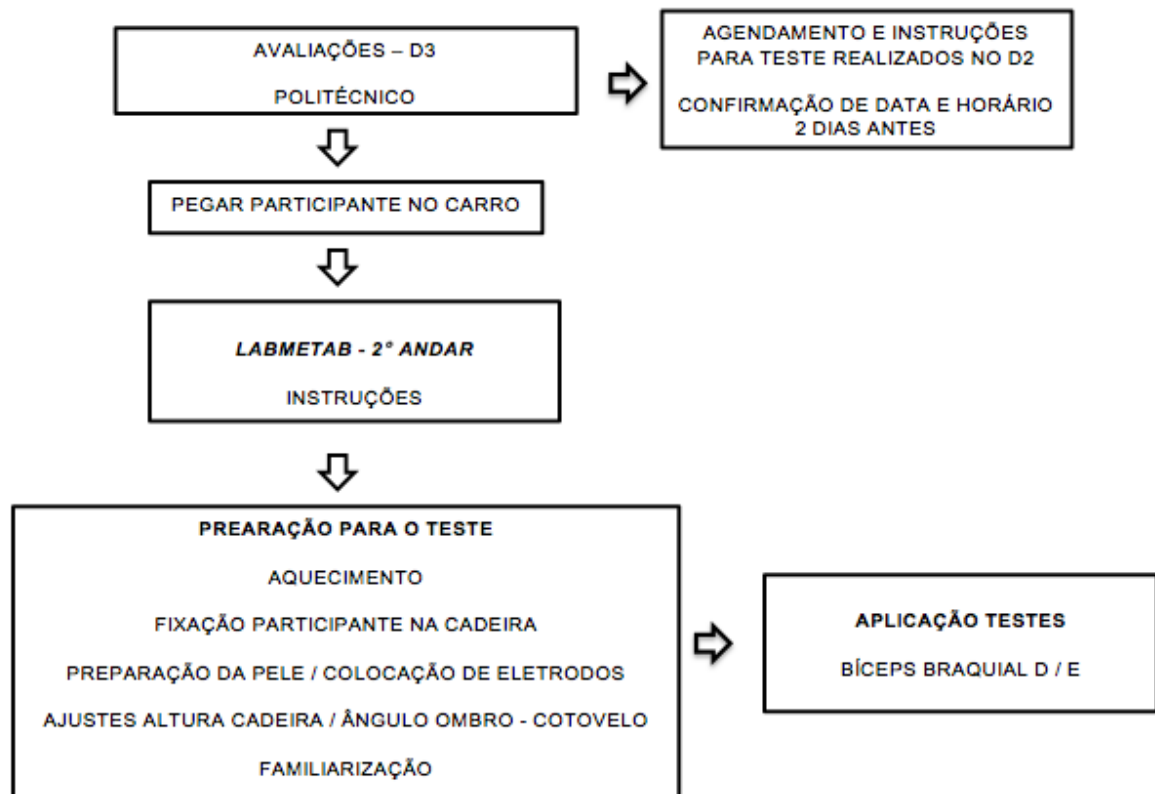


FIGURA 12 Esquematização do procedimento realizado no D3.

Materiais e instrumentos utilizados

Para a aquisição dos sinais eletromiográficos de superfície foi utilizado o equipamento EMGLab V1.2_2010 da marca EMG System do Brasil® que possui sistema de aquisição de sinais de oito canais com conversor A/D1208 e um microcomputador.

Para a aquisição da variável força foi utilizado um dinamômetro de tração da marca EMG System do Brasil® que foi conectado ao equipamento de leitura dos sinais eletromiográficos por meio de um cabo de 1,5m. Assim, os dados eletromiográficos e de força foram coletados concomitantemente pelo mesmo equipamento, tornando as duas coletas sincronizadas. Além disto, os testes podiam ser acompanhados durante a coleta no monitor do microcomputador. A força gerada pelo participante durante as contrações foi transmitida ao dinamômetro através por um cabo de aço inextensível de um metro de comprimento. A outra extremidade do

dinamômetro foi fixada ao punho do voluntário por meio de luva especificamente para os testes deste estudo.

Além destes equipamentos de avaliação, foram utilizados faixas elásticas e cintas na fixação para a manutenção do participante na posição adequada ao teste. Na preparação da pele para a colocação dos eletrodos modelo 2223BRQ da Marca 3M® utilizou-se álcool e gaze.

5.2.3 Avaliações

5.2.3.1 Avaliação de integridade osteoarticular

Esta avaliação foi realizada para a verificação da saúde osteoarticular dos MMSS. Foi analisada a amplitude de movimento e verificada a presença de algias e/ou lesões que pudessem comprometer a total cooperação do participante no teste, portanto, os avaliados que apresentaram algum dos critérios descritos acima foram excluídos. As medidas realizadas primeiramente foram, da circunferência do músculo Bíceps Braquial relaxado e contraído e a captação do Sinal Eletromiográfico de Repouso - RMS Repouso.

5.2.3.2 Avaliação de parâmetros relacionados à força e torque

Pelas contrações isométricas voluntárias máximas (CIVM) do bíceps braquial obteve-se a força e torque muscular.

Primeiramente foi encontrada a força (kgf) com a utilização do dinamômetro, esta variável foi salva e após a coleta finalizada os parâmetros (A) tempo de ativação muscular contado de zero até ponto de início de oscilação da força; (B) tempo de desativação muscular contada do final da contração até relaxamento completo; (C) Força máxima de início da contração; (D) Força no final da contração;

(E) Força Pico e (F) Média da Força na CIVM foram tabuladas para posteriores análises.

O torque muscular (N.m) foi obtido a partir da distância do ponto de fixação da célula ao centro articular (determinada por meio de uma fita métrica) multiplicada pela força muscular.

5.2.3.3 Avaliação da atividade elétrica muscular

Conforme mencionado anteriormente nos procedimentos gerais, a atividade eletromiográfica (EMG) do músculo bíceps braquial foi gravada durante as CIVM.

Os sinais da EMG foram registrados, amplificados e digitalizados à frequência de 2000Hz. Para análise, o sinal eletromiográfico foi retificado (RMS) com onda completa e o pico de ativação foi definido como o máximo valor obtido no RMS . Após, o sinal foi integrado (iEMG).

5.2.3.4 Avaliação da ativação voluntária muscular

A ativação voluntária do bíceps braquial foi avaliada durante uma CIVM pela técnica de superposição elétrica de burst (trens de pulso elétrico de alta frequência superimposto ao músculo em contração). Para realização da estimulação elétrica foi utilizado o aparelho TENS-FES HTM Clínicoo qual foi programado de forma a enviar um estímulo elétrico no modo de eletroestimulação funcional na frequência de 100Hz, largura de pulso 400 μ s, rampa de subida e descida de 1s.

Dois eletrodos auto-adesivos foram posicionados sobre a pele, ao lado dos eletrodos utilizados para o EMG. Para a localização do ponto motor do músculo após o eletrodo ser posicionado o mais próximo possível ao ponto motor, um pulso elétrico foi emitido para efetuar contração muscular (KNAFLITZ et al., 1990; FORRESTER; PETROFSKY, 2004). Após a localização adequada do eletrodo ser encontrada (mínimo de intensidade com contração adequada da musculatura) a

intensidade máxima foi determinada pelo movimento completo de flexão do bíceps braquial sem fibrilação. O valor da intensidade máxima suportada pelo participante e capaz de contrair efetivamente a musculatura foi anotada.

Após determinação da intensidade máxima do estímulo elétrico houve intervalo de 5 minutos para minimizar o efeito da fadiga no desempenho, o participante realizou CIVM de 5 segundos e quando a força máxima foi atingida e mantida um estímulo elétrico com trem de pulso (onda retangular) supramáximo de um segundo de duração, com frequência de 100Hz e duração de fase de 400 μ s foi superimposto a contração. Durante todo o teste encorajamento verbal foi realizado para assegurar o esforço máximo durante a CIVM.

Para avaliar o nível de ativação voluntária do músculo o cálculo da taxa de ativação central – CAR (Central Activation Ratio) foi realizado. A taxa de ativação central foi obtida pela divisão da força gerada pela CIVM pela força produzida com a superimposição do estímulo elétrico externo na CIVM. Valores de CAR igual a 1 foram considerados como 100% da ativação voluntária. Taxas de ativação central menor que 1 indicam ativação incompleta (Kent-Braun e Le Blanc, 1996; Kent-Braun, 1997).

5.2.3.5 Protocolo

O protocolo utilizado foi adaptado do estudo realizado por SK Stakehouse et al, 2001 (Stackhouse et al., 2001). Portanto, além de avaliar a capacidade de produção de força pela CIVM, avaliando assim a capacidade dos participantes de ativarem voluntariamente o músculo bíceps braquial, utilizou-se a superimposição de eletroestimulação superficial em forma de trem de pulso para avaliar a taxa de ativação central durante uma CIVM de 3-5 segundos. Neste estudo também foi realizada a avaliação dos mesmos parâmetros em músculo fadigado. Para tanto, o avaliado executou 25 CIVM de 5 seg. Com 2 seg de intervalo entre elas, e na 25ª CIVM foi imposta a mesma estimulação elétrica no músculo, para a verificação da taxa de ativação central perante fadiga da musculatura avaliada.

Aquecimento prévio ao teste

Previamente à colocação do participante na posição do teste, foi realizado aquecimento com ergômetro de braço. Foi pedido ao participante para “pedalar” o ergômetro de braço a uma velocidade confortável por 10 minutos. Devido ao acometimento do SNA e da diminuição de funcionalidade em MMSS em alguns participantes, todos os indivíduos foram alertados que poderiam parar se sentissem algum desconforto ao realizar o aquecimento.

Posicionamento do participante

Para maior confiabilidade do teste, devido à incapacidade dos participantes com LM em manter-se na posição ortostática para a realização do teste de força muscular, todos os participantes realizaram o referido teste sentados. Os lesados medulares realizaram os testes na própria cadeira de rodas, que foi devidamente presa para não ter problema de movimentação na hora do teste. Devido ao acometimento da musculatura de tronco dos lesados medulares, para que todos tivessem a mesma estabilidade durante o teste e utilizassem somente a musculatura testada, os indivíduos foram presos à cadeira com cintas na cintura pélvica, faixa abdominal e peitoral. Cada participante foi posicionado de maneira que sentado na frente da mesa de avaliação o braço testado estivesse com o ombro fletido a 90°.

Colocação dos eletrodos

A pele do participante foi limpa com álcool e gaze com o intuito de que a aderência dos eletrodos à pele fosse a melhor possível. Quanto mais limpa, seca e desengordurada a pele estiver melhor é a captação do sinal eletromiográfico. Não foi necessário fazer tricotomia em nenhum dos participantes deste estudo.

Para a colocação dos eletrodos foi utilizada os guidelines presentes no site <http://seniam.org/bicepsbrachii.html> que mostram a posição apropriada dos eletrodos a partir de estruturas anatômicas. A figura 13 especifica o local de fixação dos eletrodos para análise eletromiográfica do bíceps braquial.

Músculo	Bíceps Braquial
Subdivisão	Cabeça longa e curta
Origem	Cabeça curta : Processo coracóide da escápula Cabeça longa: Tubérculo Supraglenoidal da escápula
Inserção	Tuberosidade do rádio e aponeurose bicipital
Inervação	Nervo Musculocutâneo (C5-6)
Procedimento para colocação dos eletrodos	
Posição inicial do avaliado	Sentado em uma cadeira com o úmero encostado no tronco, o cotovelo fletido a 90° e o antebraço supinado
Tamanho do eletrodo	10mm
Distância entre eletrodos	20mm
Colocação do eletrodo	
Localização	Os eletrodos devem ser fixados a 1/3 da fossa cubital seguindo a linha média da fossa cubital até o acrômio
Orientação	Na direção de uma linha imaginária entre o acrômio e a fossa cubital
Fixação	Fita hipoalérgica ou bandas elásticas
Eletrodo de Referência	Processo estilóide do braço testado
Teste	pedir para o avaliado que faça uma força contra a braçadeira colocada no punho como se fosse levantar o aparato preso a seu punho.

FIGURA 13 Posicionamento de eletrodos para EMG

Para verificar se a captação dos sinais eletromiográficos estava sendo realizada de forma adequada, pediu-se para o participante ficar com o cotovelo estendido e desta forma, foram coletados 30 segundos de repouso muscular.

Posteriormente, a braçadeira almofadada foi posicionada e presa fortemente ao punho do participante ao qual foi requisitado a flexão a 90° do cotovelo, sendo que nesta posição foi ajustada a distância do cabo da célula de carga para que não houvesse movimento no momento do teste. Assim sendo, com o punho preso à célula de carga, o participante conseguia esticar o cotovelo para descansar o braço porém não conseguia fletir o cotovelo mais do que 90°. Para que o ângulo entre dinamômetro e antebraço ficasse igual para todos os participantes ocorreram ajustes no comprimento e na altura do cabo que conectava a célula de força ao ponto fixo.

Quando o participante afirmava que estava confortavelmente fixado na cadeira, e que a braçadeira estava firmemente amarrada ao punho porém não estava machucando, foi pedido ao participante que mantivesse o ombro aduzido com o comando “*a partir de agora você deve ficar com o braço encostado no seu tronco, sem mexê-lo para frente, para trás ou afastá-lo do tronco. Quando você puder mexer o braço nós avisaremos*”.

O participante foi alertado de que seriam utilizados estímulos verbais para o início e término do teste, além de estímulo verbal motivacional durante a realização do mesmo. Foi combinando que para o início da contração muscular o avaliador contaria até três e quando dissesse “**já**” o participante deveria executar a contração do bíceps braquial como instruído anteriormente. Durante todo o tempo de execução da contração muscular o participante ouviria a palavra “**força**” repetidamente e que para o término da contração muscular a palavra “**pare**” seguida da palavra “**relaxe**” seria utilizada, só então o participante poderia relaxar completamente o membro avaliado (3 minutos de descanso entre as CIVM).

Execução do teste

O teste foi realizado seguindo a sequência mencionada abaixo:

1. Coleta dos sinais eletromiográficos do músculo bíceps braquial relaxado por 30 seg.
2. CIVM realizada 3 vezes com duração de 5 seg, sendo que entre cada contração ocorreu um intervalo de 3 minutos.
3. Colocação dos eletrodos para eletroestimulação
4. Pesquisa para máxima intensidade tolerada
5. Período de recuperação do músculo de 5 minutos
6. CIVM com duração de 5 seg e superimposição da eletroestimulação ao final
7. 15 minutos de descanso
8. 25 CIVM de 5 seg com 2 seg de repouso para avaliar fadiga
9. Na 25ª contração superimposição da intensidade utilizada no item 6.

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a confirmação de normalidade e homogeneidade dos dados pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, uma série de análises de variância foram realizadas utilizando ANOVA one-way. O teste de Bonferroni foi aplicado para identificar onde as diferenças ocorreram. Testes t também foram utilizados quando necessário. Os testes estatísticos foram executados com o software SPSS® (20,0 IBM®) tendo o nível de significância aceito em $p < 0,05$.

5.4 RESULTADOS

AValiação DE INTEGRIDADE OSTEOARTICULAR

Trinta e dois participantes passaram por testes de integridade osteoarticular, sendo que somente cerca de 35% dos avaliados foram considerados aptos a realizar o teste de força. Dos 11 participantes incluídos no teste de força, quatro eram Hígidos, dois Paraplégicos e cinco Tetraplégicos.

Entre os 10 hígidos que participaram dos testes de avaliação osteoarticular todos estavam aptos a realizar o teste, porém seis não marcaram o teste por incompatibilidade de horários. Dentre os 11 paraplégicos avaliados, dois não puderam realizar os testes por incompatibilidade de horários, cinco apresentaram tendinites de Manguito Rotador tendo dor na manutenção da posição necessária para o teste e dois estavam em tratamento de epicondilite. No grupo dos Tetraplégicos avaliados um foi excluído devido a espasticidade severa em MMSS, quatro por tendinites em Manguito Rotador e um por não apresentar ADM completa da articulação de cotovelo.

Medida da circunferência do músculo Bíceps Braquial

O Bíceps Braquial foi mensurado em ambos os MMSS quando relaxado e contraído (Tabela 11). O teste estatístico de Kolmogorov-Smirnov foi realizado certificando a normalidade dos dados ($p > 0,05$).

TABELA 11 Medida da circunferência do músculo Bíceps Braquial

	Bíceps D Relaxado (cm)	Biceps D Contraído (cm)	Bíceps E Relaxado (cm)	Bíceps E Contraído (cm)
Hígido	36,2±2,83	37,65±2,98	36,3±2,54	37,37±2,68
Paraplegia	32,2±2,55	34,2±2,69	34,8±4,24	35,25±4,60
Tetraplegia	29,34±4,82	30,9±5,26	29,74±4,98	31±5,39

Os valores representam média ± DP.

O teste *t* independente demonstrou diferença na média entre a circunferência muscular do bíceps braquial entre grupos Hígido ($M= 36,20 \pm 2,83$) e Tetraplégico ($M= 29,34 \pm 4,82$) para o músculo relaxado MSD $t(7)= 2,49$, $p<0,05$. Para o músculo bíceps braquial D contraído a média do grupo Hígido ($M= 37,65 \pm 2,98$) foi significativamente maior que no grupo Tetraplégico ($M= 30,9 \pm 5,26$), $t(7)= 2,42$, $p<0,05$.

Sinal Eletromiográfico de Repouso - RMS Repouso

Exceto pelo RMS encontrado no músculo bíceps braquial do participante 8 (RMS= 6,10) todos os outros membros analisados estavam dentro da normalidade de atividade elétrica em repouso RMS <5 mV (Figura 14).

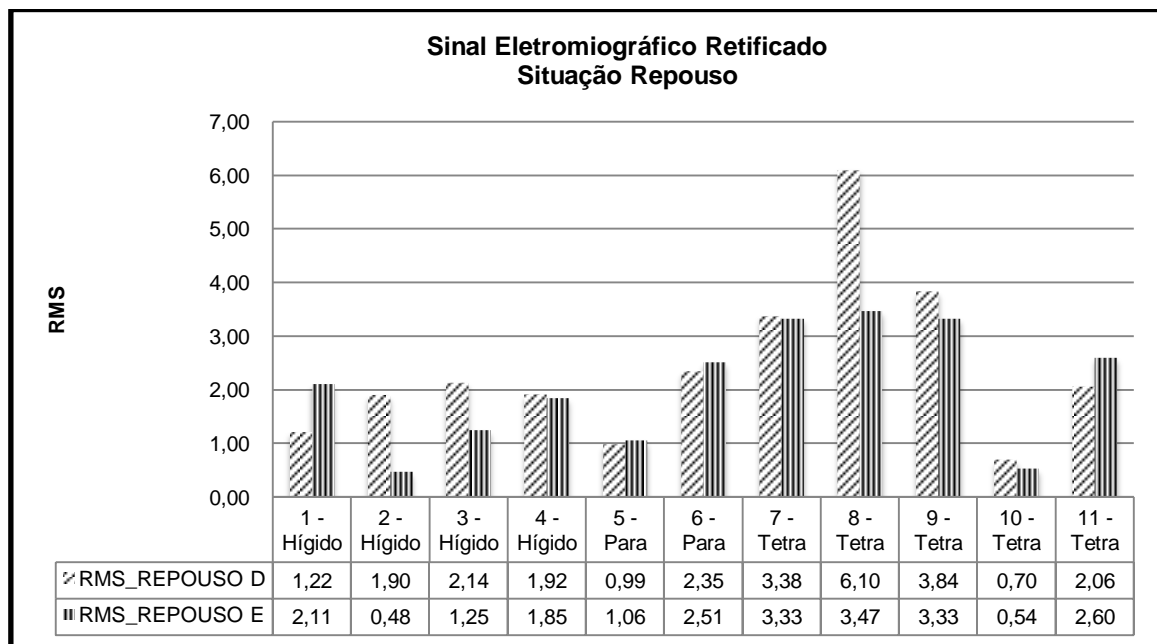


FIGURA 14 Medida do sinal eletromiográfico retificado em repouso

Nota: RMS: Sinal Eletromiográfico Retificado; Para: Paraplégico; Tetra: Tetraplégico.

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FORÇA

Pico de Força - Média da Força Isométrica

Para analisar os dados do teste de dinamometria as medidas abaixo foram tabuladas da melhor CIVM de cada participante, bilateralmente conforme demonstrado na figura 15.

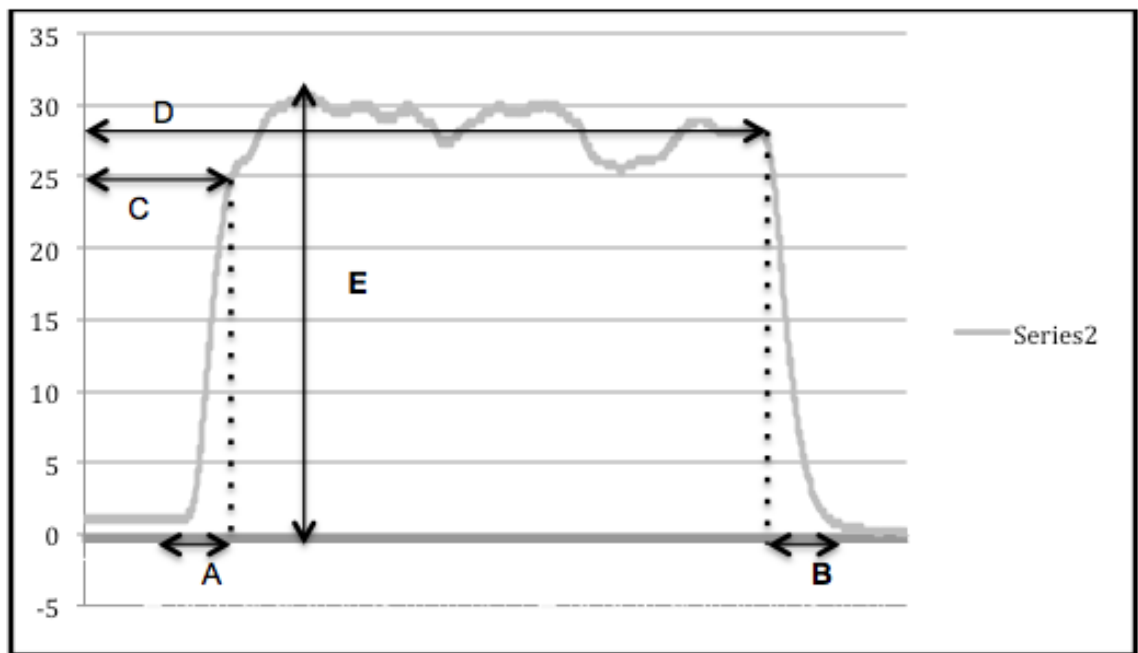


FIGURA 15 Medidas avaliadas na dinamometria do músculo bíceps braquial bilateralmente. Nota: (A):tempo de ativação muscular contado de zero até ponto de início de oscilação da força; (B) tempo de desativação muscular contada do final da contração até relaxamento completo; (C) Força máxima de início da contração; (D) Força no final da contração; (E) Força Pico.

Tempo de Ativação e desativação do músculo em contração

O tempo decorrido de zero kgf até ponto de início de oscilação da força foi considerado como tempo de ativação muscular (Figura 13 - A) e o tempo de desativação muscular foi estipulado como sendo do final da contração até relaxamento completo (Figura 13 - B). A figura 14 detalha os tempos de ativação e término da contração.

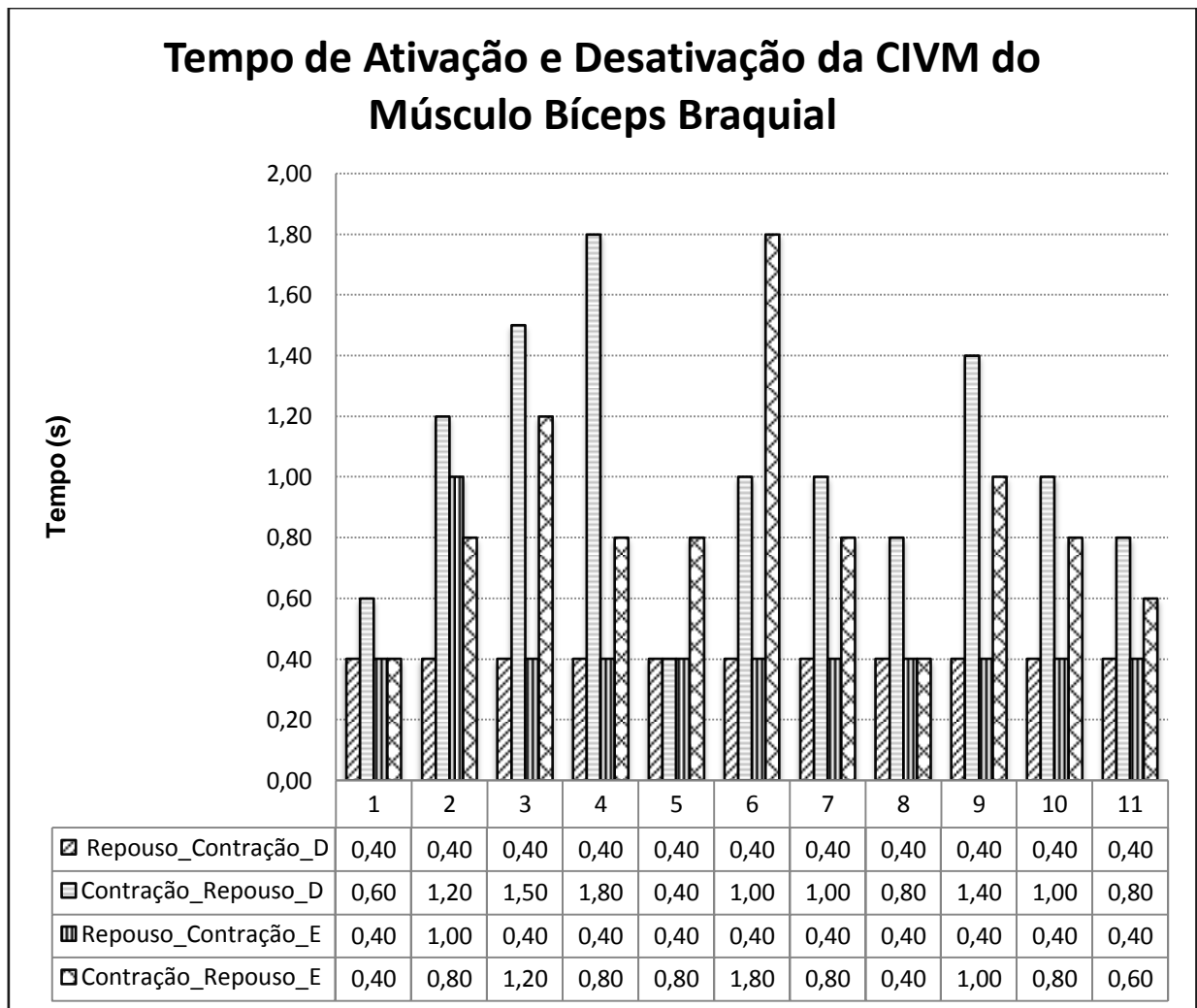


FIGURA 16 Tempo de ativação do músculo para início da contração e desativação do músculo até o retorno ao estado de repouso.

Nota: (Repouso_Contração_D e Repouso_Contração_E): tempo de ativação muscular contado de zero até ponto de início de oscilação da força; (Contração_Repouso_D e Contração_Repouso_E): tempo de desativação muscular contada do final da contração até relaxamento completo;

Foi realizada a análise descritiva dos dados de tempo de ativação e desativação da CIVM bilateral, cujo teste de normalidade para os parâmetros de Repouso_contração e Contração_Repouso para os grupos separadamente não deram significativos para Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$), sendo assim, estes dados foram analisados como paramétricos.

Na média, o tempo levado para o retorno ao estado de repouso no MSD foi maior ($M = 1,05 \pm 0,41$, $EP = 0,12$) que o tempo levado para a ativação desta musculatura ($M = 0,40$), $t(10) = -5,24$, $p < 0,05$. O mesmo padrão foi encontrado no MSE, com o tempo de retorno ao estado de repouso levando em média 0,4s ($M = 0,85 \pm 0,39$, $EP = 0,12$) a mais do que o tempo levado para a ativação deste músculo ($M = 0,45 \pm 0,18$), $t(10) = -3,03$, $p < 0,05$.

Força de início e término de CIVM de 5s

A força máxima de início da contração (Figura 13 - C) e a força no final da contração (Figura 13 - D) foram analisadas descritivamente, sendo que o teste de normalidade foi aceito com Kolmogorov-Smirnov não significativo ($p < 0,05$) tanto para o total dos participantes quanto para grupos separados.

TABELA 12 Análise descritiva da força do início e término da contração isométrica voluntária máxima CIVM.

ANÁLISE DESCRITIVA			
		Média (kgf)	Desvio Padrão
Força_Início_CIVMD	Hígido	24,66	4,74
	Paraplégico	14,62	7,31
	Tetraplégico	16,08	3,62
Força_Término_CIVMD	Hígido	30,33	3,76
	Paraplégico	21,29	8,96
	Tetraplégico	24,65	3,80
Força_Início_CIVME	Hígido	23,16	4,48
	Paraplégico	17,79	10,13
	Tetraplégico	16,72	5,24
Força_Término_CIVME	Hígido	26,66	3,90
	Paraplégico	21,79	9,19
	Tetraplégico	22,52	4,84

Os valores representam média \pm DP.

Em média a força de início da contração do grupo Hígidos ($M = 24,66 \pm 2,37$) foi 8,58kgf maior que a encontrada no grupo Tetraplégico ($M = 16,09 \pm 1,62$). Essa diferença foi significativa $t(7) = 3,09$, $p < 0,05$.

Pico de Força e Força Média durante CIVM de 5s

Após a preparação e tabulação dos dados, a estatística descritiva foi realizada (Tabela 13). A normalidade dos dados verificada pelo teste estatístico de Kolmogorov-Smirnov não foi significativa para nenhum dos parâmetros analisados, portanto os dados apresentaram normalidade na distribuição .

TABELA 13 Análise descritiva dos valores da Média da Força e do Pico de força da melhor CIVM.

ANÁLISE DESCRITIVA				
		N	Média (kgf)	Desvio Padrão
MED_CIVMD	Hígido	4	26,47	3,41
	Paraplégico	2	23,93	1,97
	Tetraplégico	5	20,64	7,63
MED_CIVME	Hígido	4	26,88	3,83
	Paraplégico	2	24,67	1,22
	Tetraplégico	5	17,89	2,95
PICO_CIVMD	Hígido	4	32,42	3,94
	Paraplégico	2	30,88	2,24
	Tetraplégico	5	25,06	8,84
PICO_CIVME	Hígido	4	32,71	4,35
	Paraplégico	2	30,80	0,47
	Tetraplégico	5	22,16	4,50

Nota: Média da contração isométrica voluntária máxima direita e esquerda: MED_CIVMD e MED_CIVME; Pico de força: PICO_CIVMD e PICO_CIVME. Os valores representam média \pm DP.

Nas mensurações de força realizadas a partir da escolha da melhor CIVM entre as três realizadas, foram analisados o Pico de Força e Média da Força (Figura 17).

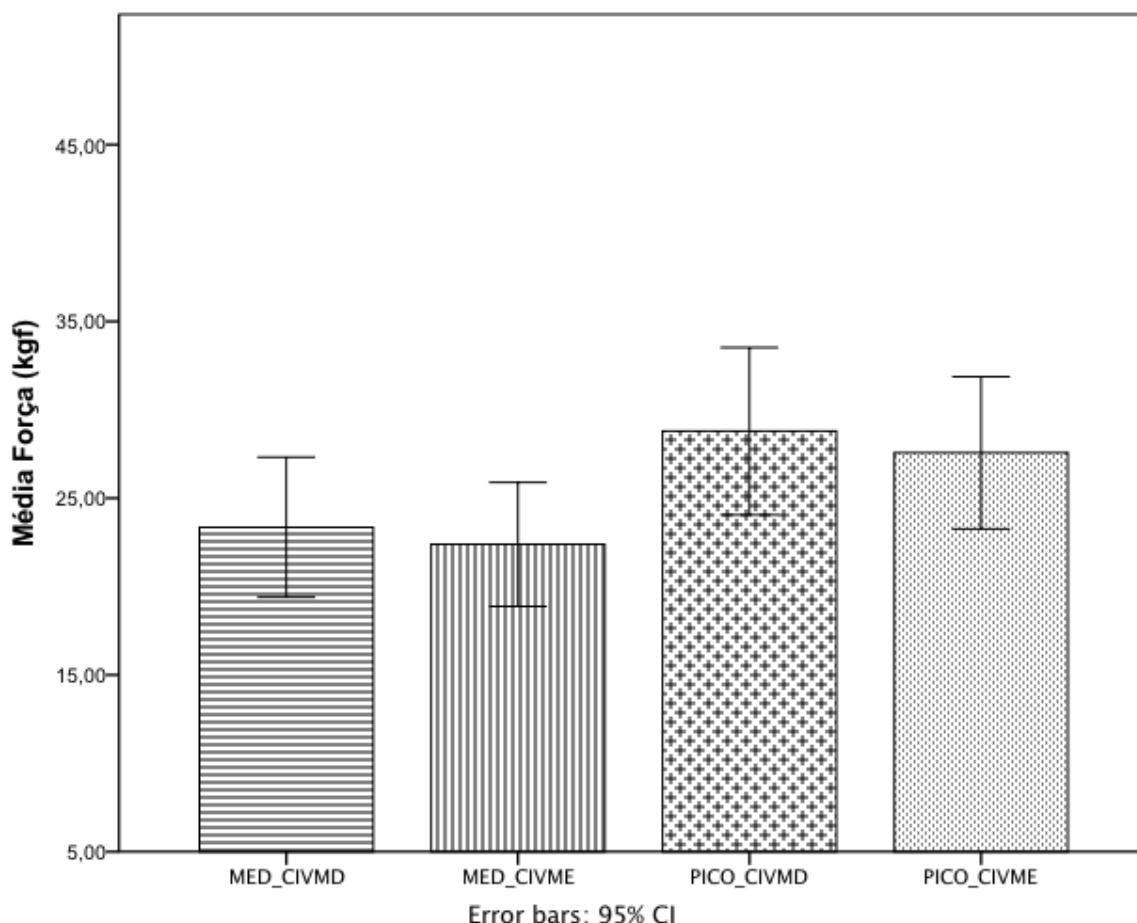


FIGURA 17 Produção de força por contração isométrica máxima voluntária (CIVM) do músculo Bíceps Braquial. Dados representados da média da CIVM direita e esquerda (MED_ CIVMD e MED_ CIVME), Pico de força (PICO_ CIVMD e PICO_ CIVME).

Ao processar ANOVA one-way os parâmetros de força analisados do MSE foram comprovados como estatisticamente menores que os do MSD, Média da CIVM $F(2,8)= 1,12$ $p=0,008$, Pico da CIVM $F(2,8)= 7,91$ $p=0,013$.

Para verificar entre quais grupos ocorreram as diferenças em força o teste de Bonferroni foi realizado levando em conta as características da amostra. A Média da CIVM no MSE teve diferença de $-8,98\text{kgf} \pm 2,12$ entre o grupo de Tetraplégicos e Hígidos ($p<0,05$). Outro parâmetro que teve diferença significativa foi o Pico da

CIVM, sendo que o grupo tetraplégico apresentou $-10,55\text{kgf} \pm 2,78$ de produção de força quando comparado com o grupo Hígido de ($p < 0,05$).

Torque

Análise descritiva dos dados de torque foi realizada e tabelada (Tabela14).Kolmogorov-Smirnov não foi significativo para nenhum dos parâmetros analisados e o teste estatístico de Levene confirmou a Homogeneidade da amostra.

TABELA 14 Análise descritiva do Torque

		N	Média	Desvio Padrão
Torque_D (Nm)	Hígido	4	9,68	1,56
	Paraplégico	2	8,50	0,83
	Tetraplégico	5	6,93	2,41
Torque_E (Nm)	Hígido	4	9,69	1,66
	Paraplégico	2	8,63	0,57
	Tetraplégico	5	6,13	1,21

Os valores representam média \pm DP e \pm EP.

ANOVA one-way foi realizada para comparar os 3 grupos, e foi encontrada diferença significativa no Torque produzido pelo MSE $F(2,8) = 8,16$ ($p < 0,05$). O teste de Bonferroni foi aplicado para verificar onde se encontrava a diferença, mostrando que o grupo Tetraplégico tinha redução do torque de $-3,56 \pm 0,90$ ($p < 0,05$).

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ELÉTRICA MUSCULAR

Para avaliar os dados da atividade elétrica do músculo bíceps braquial em uma CIVM o EMG foi realizado concomitantemente com a captura da força . Os parâmetros investigados foram (I) o sinal eletromiográfico retificado (RMS) com onda completa; o (II) pico de ativação que foi definido como o máximo valor obtido no RMS e (III) a área sob a curva ou sinal integrado (iEMG).

Sinal eletromiográfico retificado - RMS

A normalidade dos dados de RMS foi testado e não foi significativa para ambos os MMSS, a homogeneidade também foi confirmada como não significativa pelo teste estatístico de Levene.

O teste de ANOVA one-way não encontrou diferença significativa entre os grupos hígado e LM tanto para MSD quanto para MSE.

Para verificar se existia diferença na média do RMS entre os dois MMSS foi realizado o Teste t para medidas pareadas que demonstrou diferença significativa entre as médias de RMS do MSD e MSE, sendo que RMS_D (M=729,95, EP=133,62) foi maior que RMS_E (M=485,31, EP=56,12), $t(10)=2,21$, $P<0,05$.

Pico de ativação

O máximo da ativação elétrica durante a CIVM foi avaliado e a normalidade dos dados foi confirmada pelo teste estatístico Kolmogorov-Smirnov não significativo ($p<0,05$).

A homogeneidade da amostra foi verificada pelo Teste de Levene, o qual não foi significativo ($p>0,05$). A Anova one-way foi aplicada e os resultados foram não significantes entre os grupos analisados (Tabela 15).

TABELA 15 Análise descritiva do Pico de Ativação Elétrica.

		Média	Desvio Padrão
Pico_Ativação_D	Hígido	1282,66	649,67
	Paraplégico	1313,80	1417,66
	Tetraplégico	935,04	636,07
Pico_Ativação_E	Hígido	898,43	364,06
	Paraplégico	842,49	461,05
	Tetraplégico	662,51	321,08

Os valores representam a média \pm DP.

Área sob a curva ou sinal integrado - iEMG

A análise descritiva das médias do iEMG para os grupos separadamente apresentou normalidade dos dados com o teste estatístico Kolmogorov-Smirnov não significativo ($p < 0,05$). A homogeneidade da amostra foi verificada pelo Teste de Levene, o qual não foi significativo ($p > 0,05$). A Anova one-way foi aplicada e os resultados foram não significantes entre os grupos analisados.

O teste t foi realizado entre a média total de iEMG_D e iEMG_E e não foi significativo ($p = 0,25$).

Avaliação da ativação voluntária muscular

A taxa de ativação voluntária muscular do bíceps braquial foi testada para normalidade e homogeneidade, sendo ambas não significantes. Anova one-way foi realizada e foi verificado que não existia diferença significativa entre os grupos.

Avaliação de fadiga muscular

Na média, no teste de fadiga os indivíduos tiveram perda de $7,83\text{kgf} \pm 3,91$; $t(10) = 6,639$, $p < 0,05$ no MSD e de $6,19\text{kgf} \pm 3,89$; $t(10) = 5,28$, $p < 0,05$ no MSE.

A análise percentual de queda de produção de força está demonstrada na figura 16. Sendo que os participantes de 1, 2, 3 e 4 são do grupo Hígido, os participantes do grupo Paraplégico são o número 5 e 6 e os demais pertencem ao grupo Tetraplégico.

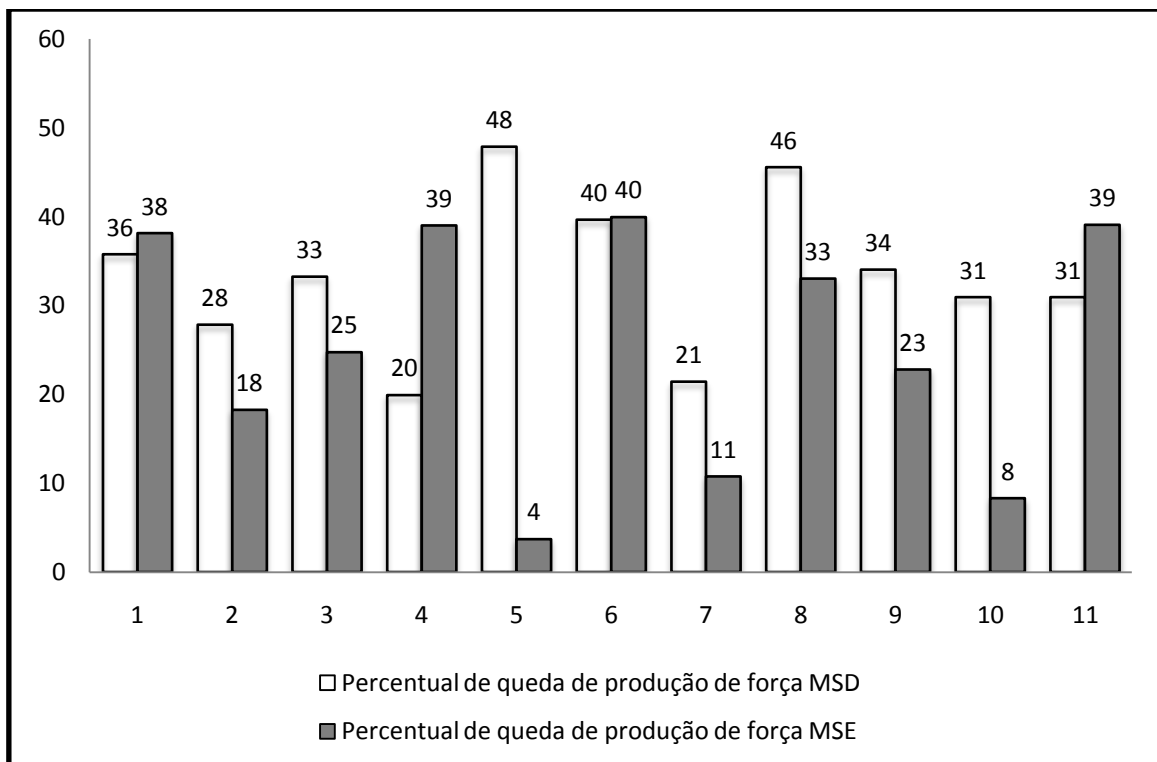


FIGURA 16 Percentual de queda de produção de força após 25 CIVM de 5s de duração e 2 seg de repouso.

O percentual de fadiga no MSD foi de $33,45 \pm 2,69$ e no MSE foi de $25,27 \pm 4,07$. O teste estatístico de Kolmogorov-Smirnov foi realizado para avaliar a normalidade da amostra que foi confirmada pelo valor de $p > 0,05$.

Não foi encontrada diferença significativa entre o percentual de fadiga do MSD e MSE analisado por meio do teste t para medidas pareadas.

5.5 DISCUSSÃO

Profissionais da área de saúde que trabalham com LM estão preocupados com o aumento das comorbidades nesta população devido a dois fatores que estão tornando-se cada vez mais frequentes. O primeiro é a mudança da idade de lesão que antes acometia pessoas entre uma faixa de 18 a 35 anos e atualmente vem acometendo pessoas em faixa acima de 40 anos de idade numa proporção cada vez maior. Outro fator é o aumento da longevidade acompanhado da crescente industrialização, que acarreta em maior consumo de alimentos de menor valor nutricional e maior valor energético associado ao aumento do sedentarismo (Groah *et al.*, 2009; Groah *et al.*, 2012). Além destes fatores existe um fenômeno que ocorre em lesados medulares chamado de “envelhecimento precoce”, caracterizado pela ocorrência dos processos de envelhecimento de forma antecipada e mais frequente e intensa que na população sem acometimento neurológico (Cieza *et al.*, 2010; Kirchberger *et al.*, 2010; Herrmann *et al.*, 2011). Portanto, comorbidades específicas da LM e outras relacionadas ao envelhecimento que impactam a função física e psicossocial e consequentemente a qualidade de vida podem ocorrer precocemente.

Uma das alterações que vem sendo foco de pesquisas recentemente é a perda de funções neuromusculares em musculatura intacta após LM sem motivo específico. Deve-se ressaltar que várias características musculares e de atividade de condução nervosa podem sofrer alterações mediadas pela LM de forma primária e secundária, e atualmente tem-se levantado a hipótese de alterações provindas do envelhecimento. Estas alterações podem variar em intensidade e magnitude e tem inúmeros fatores potencializadores, dentre estes, os que são vistos como tendo um papel importante e que podem ser alterados e prevenidos:

- (I) Aporte nutricional: Incentivar o consumo de maior valor nutricional com menor valor energético no intuito de diminuir a distribuição de massa gorda e consequentemente a massa corporal. Com isto diminui-se a sobrecarga em articulações e o risco de lesões musculares além da diminuição do estado inflamatório basal que pode influenciar no aumento das lesões em ligamentos e tendões (Groah *et al.*, 2009).

- (II) Hidratação: Altamente negligenciada pelos lesados medulares devido às alterações no esvaziamento da bexiga urinária decorrentes da bexiga neurogênica e das dificuldades físicas encontradas para esta ação. Esta diminuição da hidratação chega em alguns casos a causar desequilíbrios hemodinâmicos e tem comprometimentos mais sérios quando o SNA estiver acometido(Alexander, 2008; Baguley e Baguley, 2008).
- (III) Reabilitação: O processo reabilitativo na fase aguda da LM torna-se um fator preventivo para lesões osteomusculares, sendo que age em duas linhas distintas mas de mesma importância. A reabilitação tem como uma das funções criar e estabelecer estratégias neuromusculares de compensação de movimentos perdidos ou alterados pela diminuição da ativação elétrica dependendo do nível e severidade da LM, a outra função é de trabalhar a musculatura não acometida pela LM de forma a fortalecê-la para manter a saúde osteoarticular e ligamentar evitando lesões por esforço repetitivo, principalmente em MMSS(Subbarao *et al.*, 1995; Dalyan *et al.*, 1999).
- (IV) Utilização do conjunto neuromuscular de MMSS excessivamente e de forma inapropriada:Os grupos musculares de MMSS e cervical são excessivamente utilizados pelos lesados medulares por serem a principal alternativa de locomoção pelo uso da cadeira de rodas. Outra mudança funcional é o uso desta musculatura para realizar transferências, o que faz com que a articulação de ombro seja utilizada constantemente em ADM's e movimentos não usuais e com o peso corporal tendo que ser sustentado. Estas alterações biomecânicas fazem com que as estruturas que formam o aparelho neuromuscular (musculotendínea, ligamentar, óssea e neural) possam apresentar lesões tanto agudas/traumáticas quanto crônicas por excesso de uso(Castro *et al.*, 2000; Dudley-Javoroski *et al.*, 2006).

Entre as lesões mais comuns encontram-se as tendinites de bíceps braquial e de manguito rotador e as lesões articulares (principalmente inflamatórias)(Harvey, Lisa, 2008). E mais recentemente iniciaram-se estudos para quantificar e estabelecer os motivos de perda de força em musculatura não acometida pela LM,

sendo que a hipótese para esta diminuição de força e impossibilidade de ganho de força com trabalho muscular adequado está sendo norteadada pelo uso excessivo das unidades neuromotoras pelas alterações de função que musculatura induzida a realizar.

De maneira geral, estes agentes deterioradores podem ser diminuídos ou estacionados com certas intervenções como melhor aporte nutricional, hidratação adequada, atividade física regular e direcionada; prevenção, manutenção e tratamento imediato de lesões com fisioterapia ortopédica e neurológica e treinamento de estratégias para aperfeiçoar o toque da cadeira e as transferências com o uso da biomecânica. Portanto, este estudo teve como intenção principal verificar a capacidade de produção de força em CIVM analisando os parâmetros que foram descritos na seção dos resultados. Esta comparação de dados entre LM e hígidos teve como intuito verificar as características neuromusculares dos lesados medulares, bem como analisar se existem fatores específicos à LM que se correlacionam e agem na produção de força.

O teste isométrico foi escolhido devido a uma característica compensatória de realização de movimentos dos lesados medulares. Quando o componente de movimentação é unido à produção de força os lesados medulares tendem a utilizar diferentes músculos para auxiliar a produção de força, além disto, para realizar a contração de bíceps braquial isocinética o lesado medular mesmo estando devidamente preso para manutenção da postura e do equilíbrio, tende a utilizar mais musculatura acessória e posturas compensatórias do que quando realizando a contração isométrica.

Não questiona-se a desvantagem do teste isométrico pelo fato da força registrada ser específica à posição articular em que esta ocorreu e este valor não mimetizar o que poderia ser encontrado em outra angulação. Porém, em condições isométricas, a relação entre força muscular e atividade EMG é relativamente linear, ou seja, para determinado incremento na força muscular, ocorre aumento concomitante na amplitude do eletromiograma, que provavelmente são produzidos por combinação de recrutamento de unidades motoras e aumento da frequência de disparos. Neste estudo como o nosso objetivo principal foi analisar a produção de

força e a atividade elétrica para compará-la entre os indivíduos hígidos e lesados medulares, a isometria pareceu o tipo de contração mais indicada (Farina, Cescon, *et al.*, 2002; Kallenberg e Hermens, 2006; Merletti *et al.*, 2010).

Inúmeros fatores devem ser considerados e monitorados durante a execução do teste, isto inclui a reprodutibilidade do ângulo da articulação, da duração desta, do intervalo de descanso entre as repetições consecutivas e do número de repetições executadas (Buchanan *et al.*, 1989; Kallenberg e Hermens, 2006). Todos estes parâmetros foram verificados no decorrer dos testes e foi dada atenção especial à fixação dos participantes para que não ocorressem movimentos compensatórios que acarretassem em alterações na produção da força.

Teoricamente, os testes isométricos são medidos a partir de contrações nas quais o tamanho do músculo se mantém constante, entretanto, as contrações isométricas resultam em pequenas mudanças no tamanho da fibra muscular e no alongamento dos componentes elásticos do músculo (Rudroff *et al.*, 2008; Staudenmann e Taube, 2015). Esta movimentação pode acarretar em dificuldades na aquisição dos dados eletromiográficos, portanto a boa fixação dos eletrodos e o posicionamento correto destes foi intensamente verificado. Eletromiografia é uma técnica de monitoramento da atividade elétrica das membranas excitáveis que representa a medida dos potenciais de ação do sarcolema (efeito de voltagem em função do tempo). Portanto, o sinal EMG é a soma algébrica de todos os sinais detectados, podendo sofrer influências das propriedades musculares, anatômicas e fisiológicas (Farina, Fosci, *et al.*, 2002; Merletti, 2008; Merletti *et al.*, 2010).

Devido aos fatores mencionados acima, o bíceps braquial foi eleito para a avaliação por anatomicamente ter fibras longas e paralelas com a zona de inervação sendo localizada na região ventral deste músculo, o que propicia melhores sinais de EMG.

O primeiro parâmetro analisado foi a atividade elétrica muscular em repouso para verificar se algum dos membros analisados apresentava alteração na frequência dos potenciais de ação, o que refletiria em possíveis distúrbios nas propriedades periféricas e centrais do sistema neuromuscular como por exemplo

hipertonia ou hipotonia e algia (Farina, Cescon, *et al.*, 2002; Farina, Fosci, *et al.*, 2002; Farina, Arendt-Nielsen, *et al.*, 2004). Somente em um dos membros analisados o valor da atividade elétrica em repouso estava acima da normalidade que é de no máximo 5 μ V. Vale ressaltar que apesar de não ter sido apresentado nos resultados, como parâmetro de consistência de coleta de dados a atividade elétrica foi controlada e anotada em todos os intervalos entre os testes aplicados, com isto pode-se verificar se o participante com LM tinha alterações neurais como o espasmo, hipertonia ou hipotonia. No caso do participante que teve o MSE com aumento de atividade elétrica verificou-se que esta manteve-se no mesmo limiar durante todo o monitoramento, o que foi considerado como uma leve hipertonia.

Para o trabalho tanto terapêutico quanto para manutenção de saúde ou performance, se tratando de lesados medulares, é imprescindível se ter em mente que o nível de ativação elétrica em repouso deve ser levado em conta. Podendo este limiar mais alto prejudicar a execução de movimentos e acarretar em lesões se não tomadas as devidas precauções, ou no caso de hipotonia retardar o processo de ganho de massa muscular ou também causar distúrbios neuromusculares causando algia e outros problemas associados.

O tempo de ativação do músculo e desativação da contração muscular foi analisado no intuito de verificar se a LM prejudicaria a velocidade de recrutamento das unidades motoras, assim aumentando a rampa de subida para alcançar o platô de força. Foi verificado que não ocorreu nenhuma alteração neste parâmetro nos lesados medulares quando comparados aos hígidos, reinterando que a via neural desde o SNC até o SNP está intacta e nestes participantes não sofreu os efeitos do tempo de lesão e do uso excessivo. Houve diferença significativa no tempo de desativação da musculatura tanto no MSD quanto no MSE e em ambos os grupos. Estes achados corroboram os estudos realizados em pessoas sem comprometimento neural (Farina, Fosci, *et al.*, 2002; Farina, Merletti, *et al.*, 2004; Farina *et al.*, 2010), entretanto, não foram encontrados estudos que tivessem avaliado e comparado este parâmetro com lesados medulares.

A média da força produzida do início da contração até o platô e do término da contração até a volta ao estado de repouso foram mensurados e verificou-se que a

capacidade inicial de produção de força nos hígidos foi maior que nos tetraplégicos. A diferença da circunferência do bíceps entre os grupos, a utilização de diferentes estratégias de recrutamento das unidades motoras ou a diferença de habilidades entre o braço dominante e o não dominante podem ser os motivos para isto (Bernardi *et al.*, 1996; Bernardi *et al.*, 1999).

A força média e o pico de força não apresentaram diferenças em MSD, porém apresentaram diferença estatística em MSE tanto em LM quanto em Hígidos, isto pode estar associado à forma de recrutamento das unidades motoras e ao aprendizado motor devido à característica da tarefa e ao fato de todos os participantes terem como braço dominante o MSD. Outro parâmetro analisado foi o torque, que teve os mesmos resultados que o pico de força, sendo o torque o produto da força produzida pela distância da articulação ao ponto de fixação do dinamômetro.

Uma das formas de se avaliar a atividade elétrica da musculatura estudada foi pela retificação do sinal eletromiográfico, que demonstrou valor maior no MSD que no MSE, sendo que este fato corrobora com os achados da força. Segundo Henneman *et al.* (1965), os dois fatores que contribuem para a produção de força são a máxima frequência de disparo e o limiar de recrutamento das unidades motoras, sendo que pode-se obter grande tensão por maior recrutamento de unidades motoras (número de unidades) e/ou aumentando a frequência dos estímulos (Henneman *et al.*, 1965; Binder *et al.*, 1983).

Por outro lado quando o pico de ativação elétrica foi avaliado, não verificou-se diferença significativa entre o MSD e MSE e nem entre os grupos separadamente. Isto demonstra que ao invés da intensidade do disparo, o que foi determinante para a produção de força neste teste, foi a frequência dos disparos, as quais produziram aumento na quantidade de unidades motoras recrutadas (Olson *et al.*, 1968; Binder *et al.*, 1983).

Outro parâmetro avaliado foi a taxa de ativação voluntária do músculo, que pode ser indicativo da capacidade do SNC em ativar total e voluntariamente a musculatura. Esta taxa de ativação foi encontrada pela razão entre a força produzida

pelo músculo voluntariamente e a força produzida pela contração voluntária mais a superimposição de estímulo elétrico. Neste estudo verificou-se que não houve melhora da força após a superimposição do estímulo elétrico, o que indica total funcionamento da via neural investigada (Kent-Braun e Le Blanc, 1996; Kent-Braun, 1997).

Finalmente, o comportamento do bíceps braquial foi verificado por um protocolo de fadiga que demonstrou-se eficaz, sendo significativa a perda de força em ambos os MMSS. Quando avaliado o percentual de queda de força verificou-se maior diminuição desta no MSD, o que pode ser decorrente da maior ativação de unidades motoras necessárias para a manutenção das 25 contrações teoricamente máximas. Isto deve-se pelo fato do recrutamento das unidades motoras ser determinado pela característica da tarefa, ou seja, a intensidade e a velocidade na sua execução são os determinantes da quantidade e dos tipos de unidades motoras recrutadas (Semmler *et al.*, 2000; Hunter *et al.*, 2003; Rudroff *et al.*, 2008).

5.6 CONCLUSÃO

A análise das características da produção de força e atividade elétrica são de grande importância para o trabalho tanto de indivíduos hígidos quanto lesados medulares. A capacidade de entender os mecanismos utilizados pelo SNC para ativar eletricamente a musculatura de formas diferentes, variando intensidade e frequência de disparos, além da habilidade destas propriedades serem modificadas com o treino, tem grande relevância em casos tanto de reabilitação, reaprendizado de movimentos ou performance.

A força e pico de torque foi maior nos participantes hígidos do que nos tetraplégicos, confirmando assim a hipótese 1. A hipótese 2 foi rejeitada quanto a correlação negativa do pico de torque com a idade, tempo de lesão e severidade dos lesados medulares, porém foi comprovada a correlação negativa do torque com o nível da LM.

A hipótese 3 de que o tempo de ativação e desativação do músculo em uma CIVM será maior nos indivíduos com LM foi rejeitada. A Ativação voluntária do bíceps braquial foi igual entre LM e hígidos sendo a hipótese 4 rejeitada também. A hipótese 5 também foi rejeitada, sendo que a fadiga foi maior nos participantes hígidos quando comparados com os lesados medulares tetraplégicos.

Os dados analisados e discutidos neste estudo nos indicam que apesar de comprovada integridade da via neuronal que inerva o músculo bíceps braquial, ocorreram diferenças entre os grupos que nos levam a hipotetizar que especificidades estruturais e de ações podem influenciar na produção de força.

CAPÍTULO 6

ESTUDO 3

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM OP

6. EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM OP

6.1 INTRODUÇÃO

Atualmente têm-se grande preocupação com as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), levando a aumento nas pesquisas que visam desde entender os mecanismos que causam cada uma destas doenças até formas de se prevenir, combater ou diminuir seus efeitos adversos. Dentre as DCNT, que aumentam a cada ano e causam sérios problemas para os acometidos, familiares e sociedade, além de onerarem os cofres públicos e privados, estão as chamadas "doenças da civilização"(Bastos *et al.*, 2009). Este termo vem de estudos que mostram que fisiológica e metabolicamente os indivíduos não estão programados para responder às mudanças de dieta introduzidas pela revolução agrícola e industrial, e com isso ocorre o aparecimento de patologias como aterosclerose, doenças cardiovasculares, resistência à insulina, diabetes melitus tipo 2, síndrome metabólica, obesidade, osteoporose, hipertensão entre outras(Fonseca-Alaniz *et al.*, 2006; Sposito *et al.*, 2007).

Além das mudanças nutricionais dos últimos anos, outro fator que é forte potencializador do aparecimento de DCNTque em parte é causado também pela revolução industrial, o sedentarismo. A diminuição da necessidade de executar tarefas consideradas extenuantes, a comodidade dos meios de transporte e o avanço da tecnologia, aliados à violência urbana fizeram com que as pessoas naturalmente diminuíssem os esforços realizados nas tarefas da vida diária e diminuíssem o gasto energético e o aumento ou manutenção de massa muscular (Caspersen *et al.*, 1985; Laporte *et al.*, 1985; Garber *et al.*, 2011).

Enfim, unindo as mudanças nutricionais, o aumento da oferta de comidas industrializadas e de fácil preparo, a mudança no comportamento físico dos indivíduos e a crescente diminuição do envolvimento das pessoas em atividades físicas fazem com que as DCNT sejam alvo de programas municipais, nacionais e mundiais de combate ao sedentarismo e aos maus hábitos de vida, sendo ainda incluídos nestes maus hábitos o fumo e o álcool(Deschenes *et al.*, 1993; Ainsworth *et al.*, 2000; Lamonte e Ainsworth, 2001; Hamer e Stamatakis, 2009).

Na LM, além de todos os fatores mencionados, o lesado medular depara-se com mudança fisiológica e metabólica maior ainda causada pela disfunção do SNC, sendo que esta é apresentada em várias intensidades (Bauman *et al.*, 2004; Aito *et al.*, 2007). Devido a esta mudança anatômica, que impede a condução total ou parcial dos estímulos aferentes e eferentes via medula espinhal, ocorre a perda gradativa da musculatura acometida com alta e rápida hipotrofia muscular abaixo da LM e acúmulo de tecido gorduroso intra e intermuscular (Bauman e Spungen, 2000; 2001a; 2008). Estes dois fatores são decorrentes da imobilidade e de alterações ocasionadas por lesão ou por estímulos inapropriados ao sistema nervoso autonômico (Krassioukov *et al.*, 2003; Furlan *et al.*, 2008).

Todas estas alterações anatômicas quando agregadas à mudança dos hábitos de vida devido às dificuldades de executar AF regular e a consequente diminuição do gasto energético, fazem com que os indivíduos com LM tenham maior propensão ao acúmulo de tecido adiposo e maior dificuldade em reverter a situação (Hetz *et al.*, 2009; Hetz *et al.*, 2011). Diversas alterações metabólicas acontecem na LM e fazem com que instale-se no organismo um processo inflamatório crônico de baixa intensidade também denominado de inflamação subclínica.

Uma das formas de se mensurar o grau desta inflamação subclínica é por meio de biomarcadores inflamatórios, os quais incluem citocinas que podem ser classificadas como pró-inflamatórias tais como fator- α de necrose tumoral (TNF- α), Interferon gama (IFN- γ) e interleucinas (IL) IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, e IL-18 ou como anti-inflamatórias, fator- β de transformação e crescimento (TGF- β), IL-4 e IL-10 (Petrovsky e Harrison, 1998; Petrovsky *et al.*, 1998; O'shea *et al.*, 2002).

Resumidamente, citocinas são moléculas protéicas grandes, glicosiladas ou não, hidrofílicas que medeiam as funções do sistema imunológico por meio de sinais estimulatórios, modulatórios ou mesmo inibitórios. As citocinas também são produzidas por células que não são do sistema imunitário e que têm efeito no sistema não-imunitário também, podendo ser sintetizadas pelo endotélio vascular, adipócitos e neurônios entre outros tecidos. Exercem função autócrina agindo na própria célula produtora, parácrina atuando em células próximas e endócrina quando sua ação é à distância, outra característica é que atuam em baixas concentrações e

sua síntese habitualmente ocorre após estimulação antígena (Curi, 2009; Silverthorn, 2010).

Vale ressaltar que apesar dos inúmeros estudos a respeito das interleucinas e suas funções sabe-se que estas podem exercer papéis diferentes quando secretadas em quantidades e localizações diferentes, pois as citocinas tem a propriedade de agir em diferentes tipos celulares, podem influenciar a síntese e ação de outras citocinas e podem exercer ações locais ou sistêmicas, além de múltiplas citocinas possuírem os mesmos efeitos funcionais (Lissoni *et al.*, 1998; De Pablo *et al.*, 2000; O'shea *et al.*, 2002).

Portanto, sabendo-se das características de diminuição de tecido muscular e aumento de tecido adiposo, do processo inflamatório crônico exacerbado pelas constantes infecções de trato urinário e alterações no SNA, a análise dos marcadores biológicos são ferramenta essencial no mapeamento do real estado de inflamação do indivíduo com LM. Além disto, como a dificuldade de manutenção de AF regular acompanhada da má nutrição é problema sério em lesados medulares (Bauman e Spungen, 2001a; Chen *et al.*, 2006; Groah *et al.*, 2009) a utilização de suplementos que auxiliem a regularização deste estado subclínico inflamatório é alternativa que necessita ser estudada.

Sobre ingestão do OP, diversos benefícios provindos da manutenção da razão entre ômega-6/ômega-3 já foram demonstrados. Este balanço possibilita ao organismo manter a homeostase e quando colocado em situação adversa reaja aos processos inflamatórios de forma rápida e assertiva. Especialmente para o sistema nervoso, devido à composição das membranas celulares ser altamente rica em AGPIs, o equilíbrio entre o ácido araquidônico e o DHA promove a melhoria funcional deste sistema, que pode ser vista em trabalhos que demonstraram efeitos positivos em patologias como depressão, demência senil, Parkinson e Alzheimer (Dyall e Michael-Titus, 2008a). Adicionalmente, entre os benefícios específicos de DHA e EPA para a manutenção da homeostase podemos citar as propriedades antiinflamatória, antiplaquetária e vasodilatadora, além de que quando presentes na proporção necessária nas membranas fosfolipídicas, exercem função estrutural mantendo a fluidez da membrana celular e assim melhorando a função celular.

Outro fator estudado foi a habilidade do ômega-3 em modular a resposta imunitária diminuindo a intensidade dos processos inflamatórios pelo fato de utilizar as mesmas vias metabólicas do ômega-6. Com isso, ocorre diminuição dos mediadores inflamatórios como prostaglandina E2, e TNF- α que desencadeia a secreção de citocinas pró-inflamatórias ao mesmo tempo que estimula a síntese de citocinas com ação anti-inflamatória (Wu e Meydani, 1998; Wiktorowska-Owczarek *et al.*, 2015).

Alguns grupos de pesquisa avaliaram os efeitos da ingestão do AG n-3 em lesados medulares. O primeiro estudo foi realizado por Javierre *et al.* 2005, que analisaram os efeitos do OP na alteração das concentrações plasmáticas dos lipídeos em 19 indivíduos com LM (17 com paraplegia e 2 com tetraplegia). Os participantes receberam doses diárias de 1,5g de DHA e 0,75g de EPA, que eram divididas em cápsulas, tomadas duas em cada refeição por 6 meses. Análise de sangue pré suplementação foram comparadas com 3 e 6 meses de ingestão de n-3 AGPI. Apesar de não ter encontrado nenhuma diferença na concentração plasmática de glicose, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos entre os testes, ocorreu aumento significativo de EPA e DHA no plasma (Javierre *et al.*, 2005).

O mesmo laboratório realizou outra pesquisa suplementando 21 homens com LM, sendo 18 paraplégicos e 3 tetraplégicos, durante pelo menos 6 meses com dose diária de 1,5g de DHA, 0,60g de EPA mais 9 mg de α -tocoferol. Verificou-se além das concentrações lipídicas no plasma sanguíneo, a influência da suplementação com EPA e DHA na força muscular e na capacidade aeróbia e anaeróbia dos indivíduos após 3 e 6 meses de suplementação. Constatou-se aumento significativo na concentração de EPA e DHA no plasma sanguíneo, diminuição no consumo de oxigênio, diminuição da pressão sistólica, e nenhuma diferença nas concentrações plasmáticas de glicose, ácido úrico e lactato. Com relação à força muscular, foram realizados testes de dinamometria em bíceps e tríceps que demonstraram redução no tempo para a realização de 20 repetições a 70% da contração máxima voluntária, e de fato, esta redução foi estatisticamente significativa. O teste de campo realizado para avaliar a capacidade aeróbia não teve diferença significativa, e o teste de capacidade anaeróbia (tempo dispendido para percorrer 90 metros) teve o tempo de

teste significativamente reduzido após 3 meses de ingestão de AGPI n-3 mantendo-se igual no sexto mês. Com isto, verificou-se que a suplementação com EPA e DHA pode contribuir para a melhora das capacidades funcionais em lesados medulares, porém tem-se que levar em conta que os participantes deste estudo eram atletas em treinamento (Javierre, Vidal, Segura, Lizarraga, Medina, Ventura, *et al.*, 2006).

Outro ponto que deve ser considerado nos estudos anteriormente descritos é que apesar da importância do omega-3 para a diminuição e melhoria de diversas comorbidades ter sido amplamente discutida (Simopoulos, 1999; 2000; 2002) esta não foi confirmada nos estudos em indivíduos com LM mesmo com o aumento das concentrações de EPA e DHA no plasma tendo sido comprovada. Um dos questionamentos à respeito dos estudos com LM e suplementação com OP é que o índice de insaturação e a razão entre ômega-6 e ômega-3 não foram calculados, sendo que verificou-se em outras populações que para que ocorra os benefícios imunomoduladores e neurológicos do Omega-3, a razão entre ômega-6 e ômega-3 deve ser mantida e não revertida (Simopoulos, 1989; King *et al.*, 2006; Dyllal e Michael-Titus, 2008a).

Outros dois estudos realizados com suplementação de OP e LM avaliaram a interação entre EPA e DHA na osteoporose e em citocinas, ambos do Centro de Pesquisa em Cérebro e Medula Espinhal Iraniano. O estudo à respeito de citocinas verificou se existia diferença nas concentrações de leptina e adiponectina no plasma de lesados medulares pré e pós suplementação de 14 meses com 2 cápsulas ao dia de OP contendo cada uma 465mg de DHA e 63mg de EPA. Em 6 meses e 14 meses de suplementação não foi encontrada diferença significativa em leptina, ao passo que adiponectina ao final do período de suplementação tinha diminuído significativamente ($p=0,03$) (Sabour *et al.*, 2015).

Este mesmo grupo analisou a influência da suplementação com OP na osteoporose, fazendo associação de densitometria óssea, IL-6, IL-1 β e TNF- α . A hipótese deste estudo, foi que a ingestão de OP levaria à diminuição das concentrações de prostaglandina E2 e consequentemente diminuição da liberação das citocinas acima citadas, regredindo assim a intensidade da perda óssea. Este fenômeno já foi verificado em estudo experimental e humanos (Simopoulos, 1999;

Sun D *et al.*, 2003; Simopoulos, 2006) porémeste estudo, não encontrou mudança na densitometria óssea nem diferença significativa na diminuição das citocinas, o que foi argumentado como sendo resultado de fatores realcionados à lesão medular ainda não estabelecidos que levam à alta perda óssea em curto espaço de tempo, característica desta patologia (Sabour *et al.*, 2012).

Portanto, neste estudo procurou-se verificar primeiramente a razão entre ômega-3 e ômega-6, os parâmetros hematológicos e bioquímicos tanto nos participantes com LM e hígidos e analisar se após a suplementação com OP esta razão sofreu alguma alteração, bem como parâmetros sanguíneos e uma variedade de citocinas de maior relevância para análise de doenças crônicas com inflamação subclínica.

6.1.1 Objetivo geral

Verificar se a suplementação com 2 gramas de OP diariamente por 90 dias é suficiente para alterar parâmetros bioquímicos e citocinas de homens hígidos e lesados medulares, bem com analisar o índice de insaturação e a razão omega6/omega3 pré e pós período de suplementação.

6.1.2 Objetivos específicos

- Verificar a razão omega6/omega3 pela análise de plasma sanguíneo em homens hígidos e lesados medulares, antes e após suplementação com OP.
- Verificar as concentrações de ácido úrico, alanina transaminase (ALT), albumina, aspartato transaminase (AST), colesterol total, creatina quinase, creatinina, glicose, HDL (high density lipoprotein) colesterol, LDL (low density lipoprotein) colesterol, proteínas totais, triglicérides e ureia pela análise de soro sanguíneo em homens hígidos e lesados medulares, antes e após suplementação com OP.
- Verificar as concentrações das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IFN-gama no soro sanguíneo, antes e após suplementação com OP.

6.1.3 Hipóteses

- H1. A razão ômega6/ômega3 será mais próxima da ideal nos participantes hígidos quando comparados com os lesados medulares.
- H2. Os parâmetros bioquímicos estarão relacionados às concentrações de citocinas em ambos os grupos.
- H3. As concentrações das citocinas pró-inflamatórias será maior quanto maior a idade, tempo de lesão, nível e severidade de LM.
- H4. A razão ômega6/ômega3 será mais próxima da ideal em ambos os grupos após 90 dias de suplementação.
- H5. As concentrações das citocinas pró-inflamatórias diminuirá e as das citocinas anti-inflamatórias aumentará após 90 dias de suplementação com OP.
- H6. O índice de insaturação aumentará após a suplementação de 90 dias.

6.2 MÉTODOS

Trata-se de estudo longitudinal e intervencional. A intervenção realizada foi a suplementação durante 90 dias de ômega-3 oferecendo cápsulas de 1000mg de OP contendo 120mg de DHA e 180mg de EPA doadas pela Empresa Naturallis®.

6.2.1 Participantes do estudo

Os participantes foram recrutados como descrito na seção 3.1 do Capítulo 3.

6.2.2 Procedimentos gerais

Os procedimentos de coleta de sangue e análise das amostras estão detalhados no Capítulo 4 seção 4.2.3.4.

Após a primeira coleta de sangue os participantes receberam um pote com quantidade suficiente de cápsulas de OP para ingestão de duas cápsulas de 1000mg ao dia até a data da próxima coleta de sangue que era marcada de 30 em 30 dias. Junto com as cápsulas de OP o participante recebia uma folha com algumas recomendações de como e quando ingerir as cápsulas bem como a data que teria que retornar para a próxima coleta.

Foi ressaltado para os participantes que eles deveriam tomar as cápsulas de OP que eram entregues para eles, e que se fossem necessárias mais cápsulas era para contactar a pesquisadora para que lhe fossem fornecidas. Este procedimento foi executado pois as cápsulas de OP entregues aos participantes eram de um lote que foi analisado para a verificação das quantidades de EPA e DHA presentes em cada cápsula, e assim tinha-se que se certificar que eles não tomariam cápsulas de OP de outra composição ou marca.

Todos os dias era enviada mensagem de texto para os participantes lembrando de que eles deveriam tomar as cápsulas de OP e perguntando como

estavam de saúde geral. Com este acompanhamento diário foi realizado o controle da ingestão da suplementação, além do acompanhamento de condições que poderiam comprometer a absorção ou o efeito do ômega-3. Para que este acompanhamento alcançasse o resultado esperado foi explicado ao participante a importância de toda e qualquer alteração de saúde ser reportada. Alterações de sono, apetite, distúrbios gastrointestinais, gripes, crises alérgicas e infecções de bexiga eram anotados no recordatório individual dos participantes diariamente.

6.2.3 Avaliações

Foram realizadas 4 coletas de sangue como especificadas abaixo, e as amostras foram diferenciadas temporalmente pela cor utilizada nas etiquetas de armazenamento das amostras. Assim,

T0 = TEMPO ZERO = SEM SUPLEMENTAÇÃO DE OP = etiquetas pretas

T1 = UM MÊS DE SUPLEMENTAÇÃO DE OP = etiquetas azuis

T2 = DOIS MESES COM SUPLEMENTAÇÃO DE OP = etiquetas vermelhas

T3 = TRÊS MESES COM SUPLEMENTAÇÃO DE OP = etiquetas verdes

As amostras passaram pelos processos necessários para o armazenamento seguro e depois foram transferidas para microtubos tipo Eppendorf etiquetados conforme o uso que seria dado futuramente à amostra (ex. **P** = HPLC PLASMA).

Cada amostra foi armazenada em triplicata (ex. **1P₁** - **1P₂** - **1P₃**), sendo que o número na frente da sigla do material guardado correspondente ao número dado ao participante no primeiro encontro. O esquema da marcação das amostras está demonstrado na tabela 16.

TABELA 16 Nomenclatura utilizada para armazenamento de amostras

	HPLC PLASMA P	HPLC HEMÁCIAS H	CITOCINAS C	BIOQUÍMICA B
T0 (preto)	1P₁ - 1P₂ - 1P₃	1H₁ - 1H₁ - 1H₁	1C₁ - 1C₂ - 1C₃	1B₁ - 1B₂ - 1B₃
T1 (azul)	1P₁ - 1P₂ - 1P₃	1H₁ - 1H₁ - 1H₁	1C₁ - 1C₂ - 1C₃	1B₁ - 1B₂ - 1B₃
T2 (vermelho)	1P₁ - 1P₂ - 1P₃	1H₁ - 1H₁ - 1H₁	1C₁ - 1C₂ - 1C₃	1B₁ - 1B₂ - 1B₃
T3 (verde)	1P₁ - 1P₂ - 1P₃	1H₁ - 1H₁ - 1H₁	1C₁ - 1C₂ - 1C₃	1B₁ - 1B₂ - 1B₃

6.2.3.1 Determinação do perfil de ácidos graxos

O perfil dos ácidos graxos foi analisado no plasma dos participantes no início da pesquisa T0 e após 90 dias de suplementação pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* HPLC; Varian, Palo Alto, CA, EUA). Além disto, uma das cápsulas do lote foi analisada para quantificar a presença e concentração dos seguintes ácidos graxos: láurico; mirístico; palmítico; esteárico; palmitoléico; oléico; linoléico; linolênico; araquidônico; EPA e DHA. A incorporação do óleo de peixe foi confirmada pela determinação das concentrações de EPA + DHA em relação ao total de ácidos graxos plasmáticos usando a técnica de cromatografia, para a comprovação das concentrações descritas no produto.

A avaliação das concentrações de ácido graxo em seres humanos pode ser realizada em diversos tecidos, neste estudo utilizou-se o plasma. O sangue foi coletado em tubo de 4mL de EDTA, centrifugado a 3500 rpm (Centrífuga Refrigerada -HERMLE Labortechnul GmbH) por 15 minutos e o plasma foi aliquoteado a 100µl sendo armazenado no freezer a - 80° C para a manutenção da estabilidade adequada por longos períodos

Para análise dos ácidos graxos por cromatografia líquida de alta eficiência as amostras foram preparadas para a leitura, a seguir o processo foi resumidamente abordado, sendo que o protocolo completo utilizado para as análises está em anexo (ANEXO 3).

As amostras analisadas foram retiradas do - 80°C 12 horas antes de serem processadas, neste período foram armazenadas no -20° para degelarem lentamente. Após serem homogeneizadas as amostras de plasma passaram pelas seguintes etapas:

1. Extração lipídica realizada de acordo com o método descrito por Folch et al (1956)
2. Saponificação dos extratos lipídicos.
3. Derivatização dos ácidos graxos baseada no método descrito por Abushufa et al (1994).
4. Análise das amostras em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência por detector de fluorescência. Os seguintes ácidos graxos foram utilizados como padrões: ácido láurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoléico (C16:1n-7), ácido esteárico (C18:0), ácido oléico (C18:1n-9), ácido linoéico (C18:2n-6), ácido α -linolênico (C18:3n-3), ácido araquidônico (C20:4n-6), ácido eicosapentaenóico (C20:5n-3) e ácido docosahexaenóico (C22:6n-3). Os dados foram expressados em gramas de ácidos graxos/100g de lipídios totais (valor em %).

6.2.3.2 Análise de citocinas

Foram dosadas as citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IFN-gama em amostras de soro. A dosagem das citocinas foi realizada por meio da técnica Cytometric Bead Array (CBA) (BD, Pharmingen, EUA) que se baseia no uso de esferas de poliestireno marcadas com diferentes graus de fluorescência, recobertas com anticorpos específicos para cada citocina, que são detectados por citometria de fluxo.

As amostras de soro que estavam armazenadas no freezer -80°C foram acondicionadas em gelo seco para serem transportadas para o local da análise. Até o momento destas serem utilizadas foram armazenadas em isopor com gelo para que degelassem vagarosamente. Todo o processo de coleta, precessamento, armazenamento e análise foram realizados de acordo com as instruções do manual do fabricante, além de informações adquiridas de artigos à respeito do assunto (De Jager *et al.*, 2009; Jackman *et al.*, 2011).

Resumidamente, o protocolo utilizado foi adaptado do original proposto pelo fabricante do kit, assim ao invés de alíquotas de 50µl utilizou-se 25µl de amostra e 25µl dos padrões das citocinas. As curvas de calibração foram feitas juntamente com a preparação das amostras para futura leitura. As amostras e os padrões foram transferidos para tubos de poliestireno de 5ml, adicionados 25µl das esferas de captura conjugadas com os anticorpos monoclonais anti-citocinas para IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IFN-gamma mais o fluorocromo PE. Após incubação por 3 horas a amostra foi centrifugada a 340g por 7 minutos a 18°C, o sobrenadante foi descartado e a leitura realizada em citômetro de Fluxo (FACScalibur, BD, EUA) e os dados analisados pelo software específico para kit CBA (FCAP Array TM Software, BD, Pharmingen, EUA). A concentração das citocinas analisadas foi expressa em pg/ml. Todo o processo de preparação e análise das amostras de soro foram realizadas no Instituto Carlos Chagas – Fio Cruz.

6.2.4 Análise estatística

Após a confirmação de normalidade e homogeneidade dos dados pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, uma série de análises de variância foram realizadas utilizando ANOVA one-way. O teste de Bonferroni foi aplicado para identificar onde as diferenças ocorreram. Teste t também foi utilizado quando necessário. Os testes estatísticos foram executados com o software SPSS® (20,0 IBM®) tendo o nível de significância aceito em $p < 0,05$.

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Hemograma

O teste *t* para medidas pareadas foi realizado para cada um dos fatores no intuito de verificar se houve diferença significativa entre T0 e T3. A Figura 19 demonstra que não houve diferença no eritrograma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe, tanto entre como intra grupos.

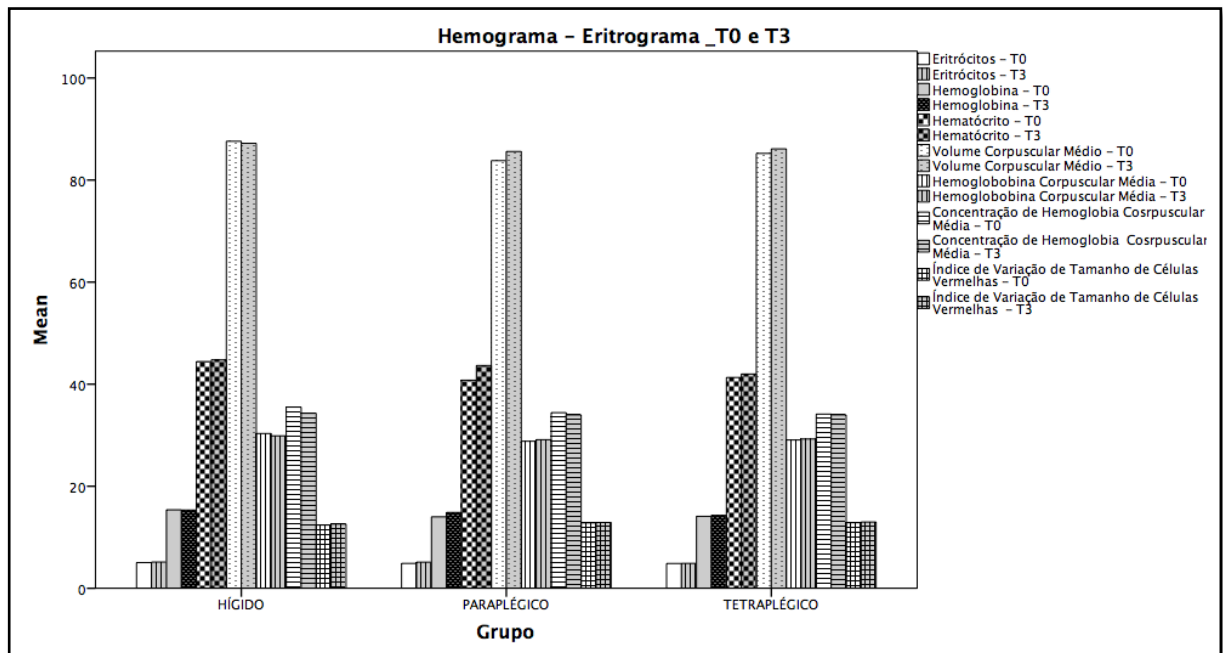


FIGURA19 Eritrograma para os três grupos especificamente: hígidos (N=10), paraplégicos (N=11) e tetraplégicos (N=11), nos tempos T0 (antes da suplementação) e T3 (pós suplementação). Resultados em Média \pm DP. Abreviatura: DP = desvio padrão.

6.3.2 Leucograma

A análise das médias dos dados do Leucograma (figura 20) demonstrou que não houve diferença significativa entre T0 (antes da suplementação) e T3 (após 3 meses de suplementação com OP).

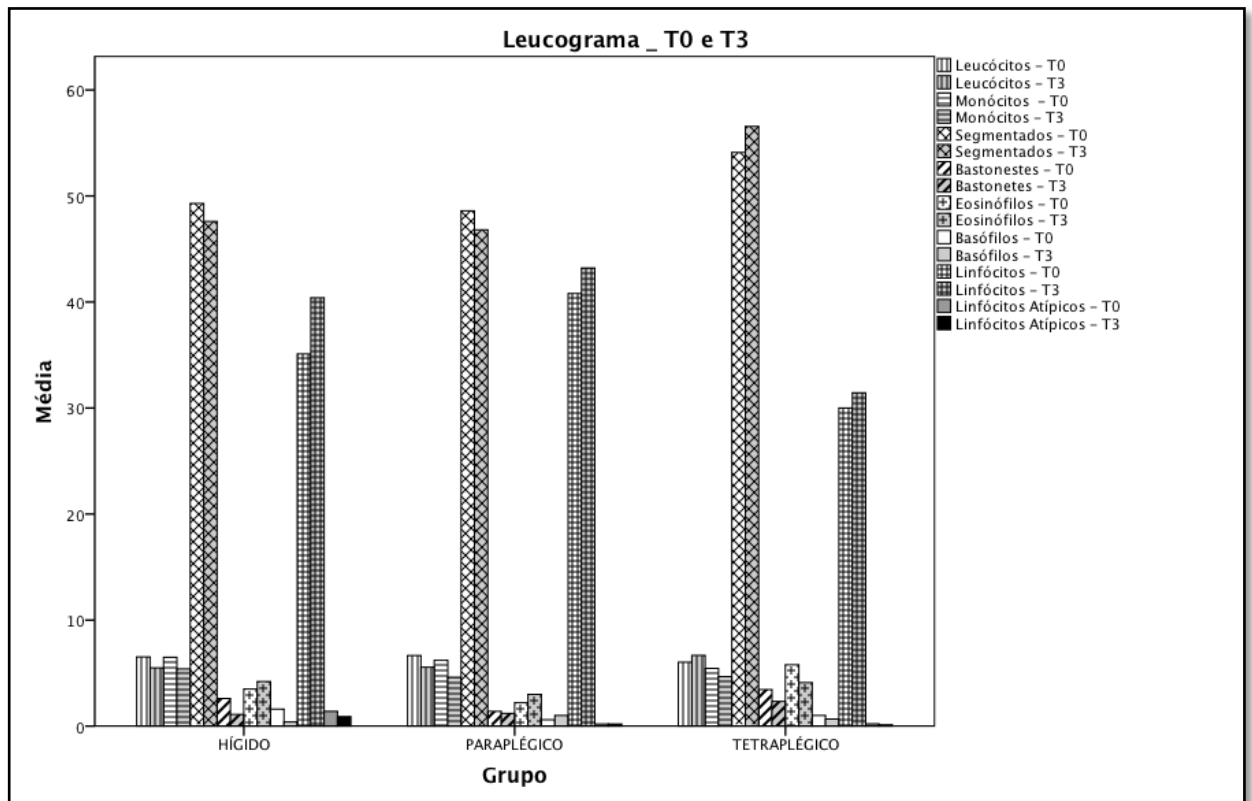


FIGURA20 Leucograma para os três grupos especificamente: hígidos (N=10), paraplégicos (N=11) e tetraplégicos (N=11), nos tempos T0 (antes da suplementação) e T3 (pós suplementação). Resultados em Média \pm DP. Abreviatura: DP = desvio padrão, Teste *t* para medidas pareadas foi realizado.

6.3.3 Plaquetas

A análise estatística dos dados relacionados às plaquetas (figura 21) não foram estatisticamente diferentes entre os tempo T0 e T3 quando teste *t* para medidas pareadas foi realizado.

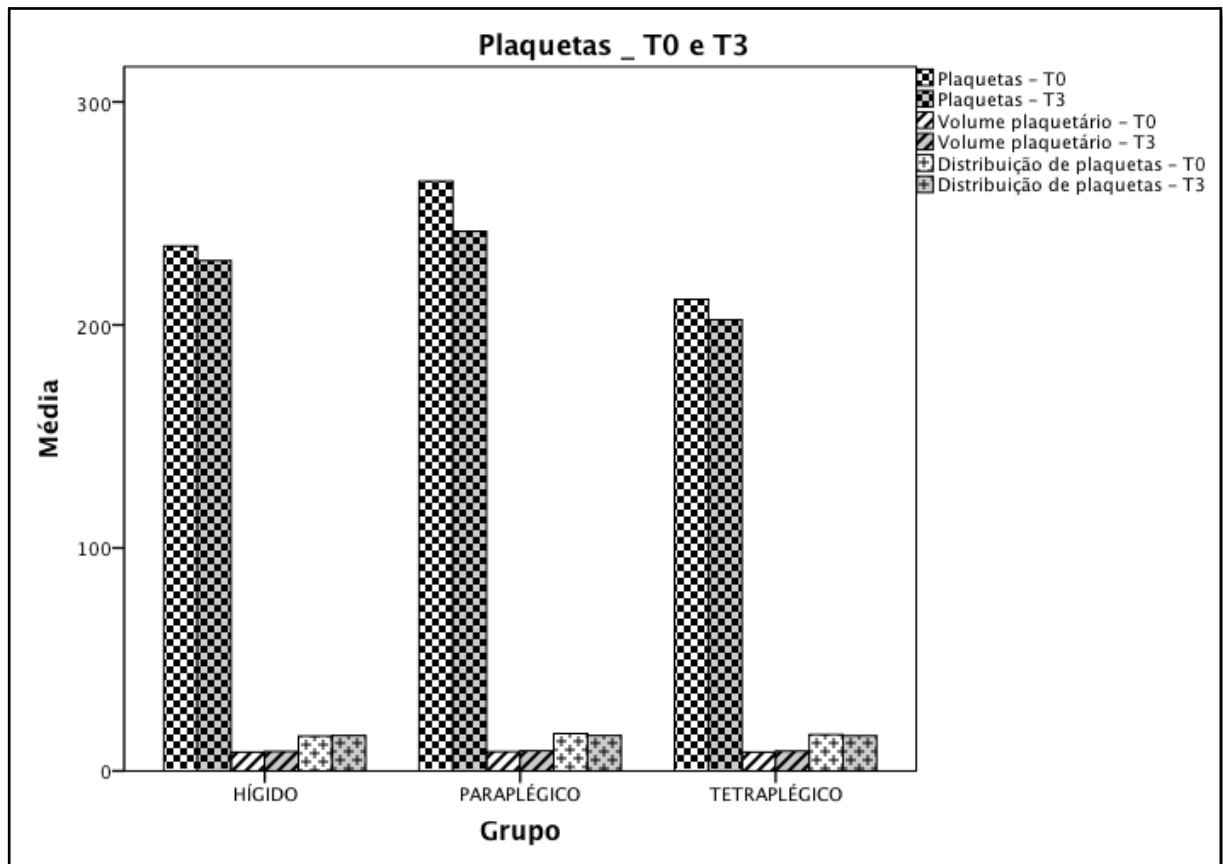


FIGURA21 Plaquetas para os três grupos especificamente: hígidos (N=10), paraplégicos (N=11) e tetraplégicos (N=11), nos tempos T0 (antes da suplementação) e T3 (pós suplementação). Resultados em Média \pm DP. Abreviatura: DP = desvio padrão.

6.3.4 Citocinas

Uma das formas de análise das citocinas foi pelo percentual de aumento ou diminuição da citocina no tempo 3 com relação as concentrações encontradas no tempo 0. Este método foi utilizado devido às diferenças encontradas entre os indivíduos.

A tabela 17 mostra os valores da citocinas pró(IL-2, IL-6, INF- γ e TNF- α) e antiinflamatórias (IL-4, IL-10) para os diferentes grupos Hígidos, Paraplégicos e Tetraplégicos.

TABELA 17 Citocinas pró (IL-2, IL-6, INF- γ e TNF- α) e antiinflamatórias (IL-4, IL-10). Valores de T3 expressos como porcentagem de T0.

	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF- α	INF- γ
Hígidos (N=10)	98,9	71,1	42,1	4,0	19,6	14,3
Paraplégicos (N=11)	228,7	22,6	-61,2	-77,3	-36,6	71,0
Tetraplégicos (N=11)	7,7	102,4	129,2	26,1	82,6	20,0

Valores de T3 expressos como porcentagem de T0. Abreviaturas: IL-2, 4, 6 e 10 = interleucinas 2, 4, 6, e 10; TNF- α = Fator de Necrose Tumoral alfa; INF- γ = Interferon gama.

Na Figura 22 houve a análise da citocina pró inflamatória IL-2 entre os grupos Hígidos, Paraplégicos e Tetraplégicos. O teste estatístico ANOVA one-way verificou que no tempo T0 não houve diferença significativa entre os grupos.

Após suplementação, o grupo Hígido apresentou diferença estatisticamente significativa entre T0 e T3 no teste *t* para medidas pareadas $t(9) = -1,66$, $p < 0,05$. Bem como o grupo Paraplégico, teste *t* para medidas pareadas $t(4) = -2,36$, $p < 0,05$. O grupo Tetraplégico não demonstrou diferença significativa após a suplementação.

A Interleucina IL-2 após suplementação mostrou diferença significativa entre os grupos, sendo que o aumento desta citocina no grupo paraplégico foi estatisticamente significativa quando comparada com os grupos Hígido e Tetraplégico.

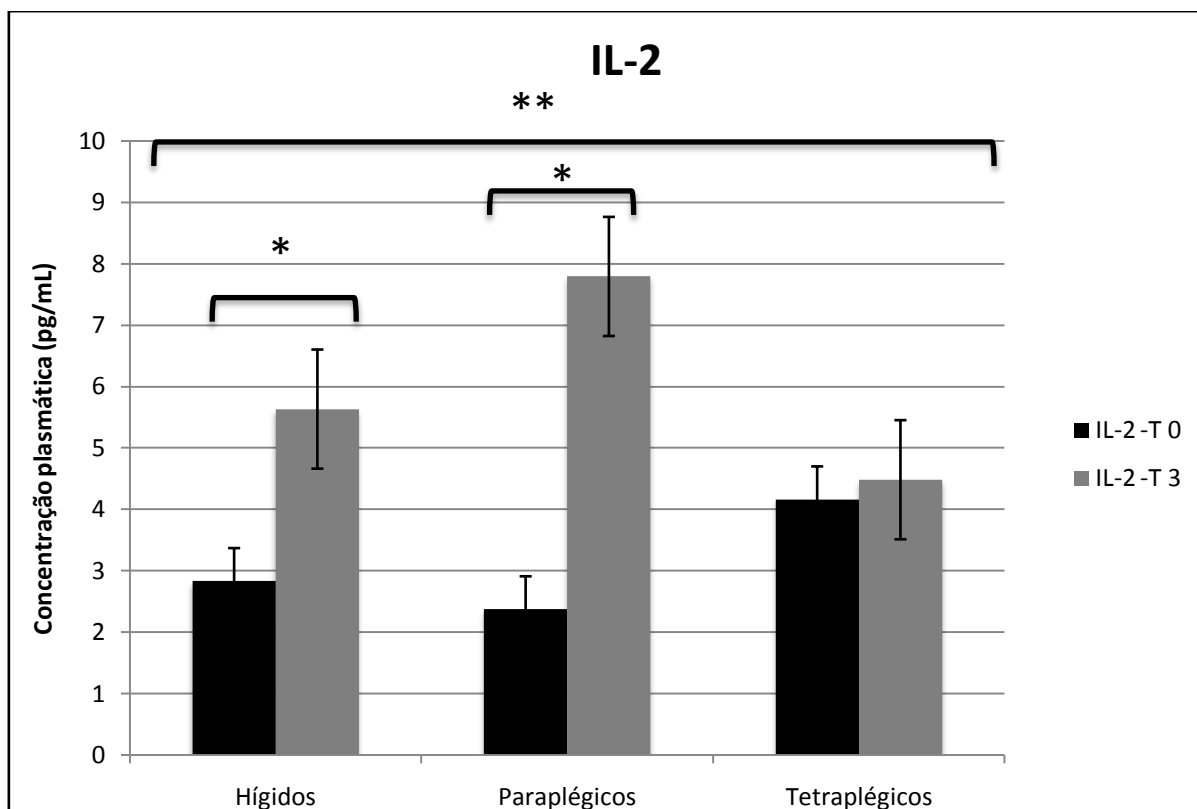


FIGURA22 Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para a citocina pró inflamatória IL-2, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe. Valores apresentados como Média \pm Desvio Padrão, considerando significância * $p < 0.05$ paragrupos Hígido (T0 -T3) e grupo Paraplégico (T0-T3) e ** $p < 0.05$ para diferença significativamente maior entre o grupo Paraplégico com os grupos Hígido e Tetraplégico pós suplementação. Abreviaturas: IL-2 = interleucina 2; pg/mL = picogramas por mililitros.

A citocina antiinflamatória IL-4, tanto no tempo T0 quanto em T3 não apresentou diferença significativa entre os grupos, provavelmente pelo desvio padrão ser muito grande. Após a suplementação, o grupo que apresentou aumento significativo em IL-4 foi o Tetraplégico, sendo que o teste *t* para medidas pareadas demonstrou diferença significativa entre as médias T0 ($M = 3,01 \pm 3,68$) e T3 ($M = 7,99 \pm 6,61$), $t(8) = 3,63$, $p < 0,05$. (Figura 23).

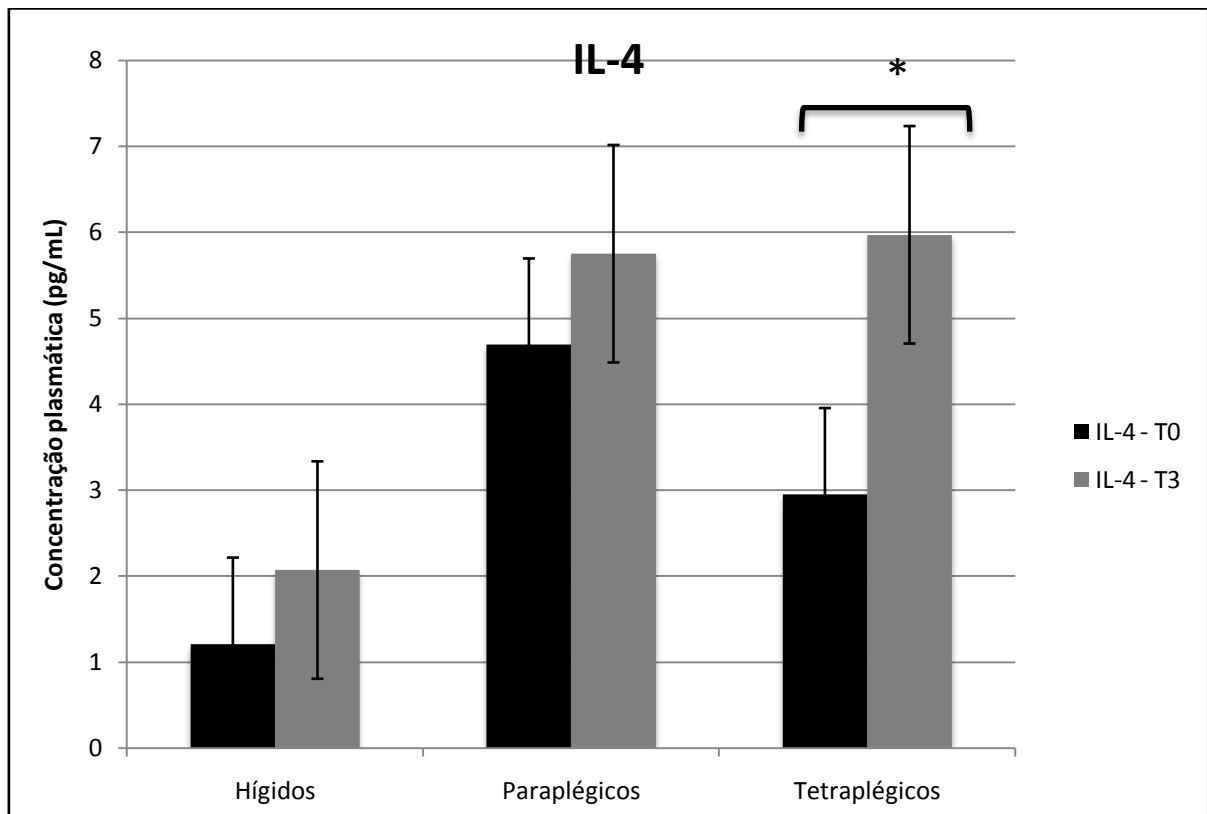


FIGURA23 Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para a citocina antiinflamatória IL-4, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe. Valores apresentados como Média \pm Desvio Padrão, considerando significância para $p < 0,05$. Abreviaturas: IL-4 = interleucina 4; pg/mL = picogramas por mililitros.

Em T0 a concentração de IL-6 foi significativamente maior no grupo Paraplégico quando comparado com os grupos Hígido e Tetraplégico. A diminuição desta citocina no grupo Paraplégico após a suplementação também foi significativa. O aumento de IL-6 após a suplementação com OP no grupo Hígido e Tetraplégico não foram estatisticamente significativos (Figura 24).

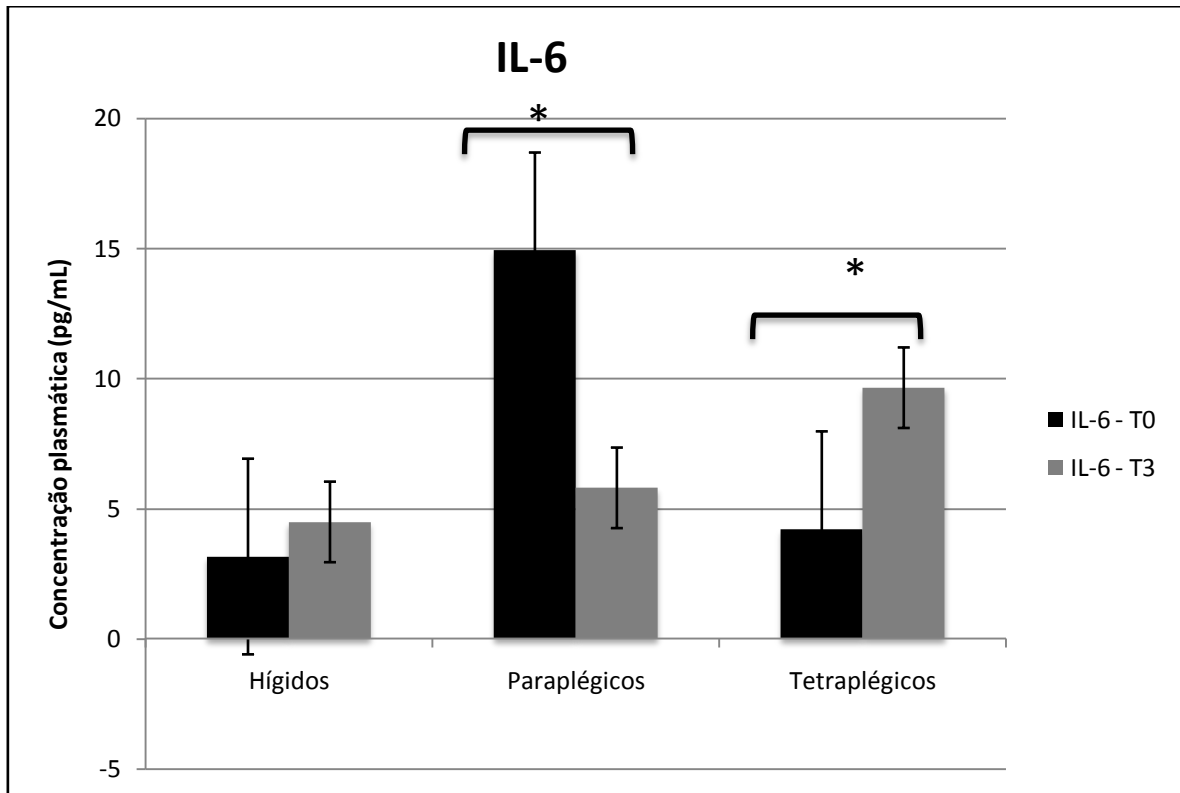


FIGURA 6.6 Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para a citocina pró inflamatória IL-6, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe. Valores apresentados como Média \pm Desvio Padrão, considerando significância para * $p < 0.05$. Abreviaturas: IL-6 = interleucina 6; pg/mL = pictogramas por mililitros.

A redução da IL-10 no grupo Paraplégico foi significativamente menor quando comparado com os grupos Hígidos e Tetraplégicos, (Figura 25).

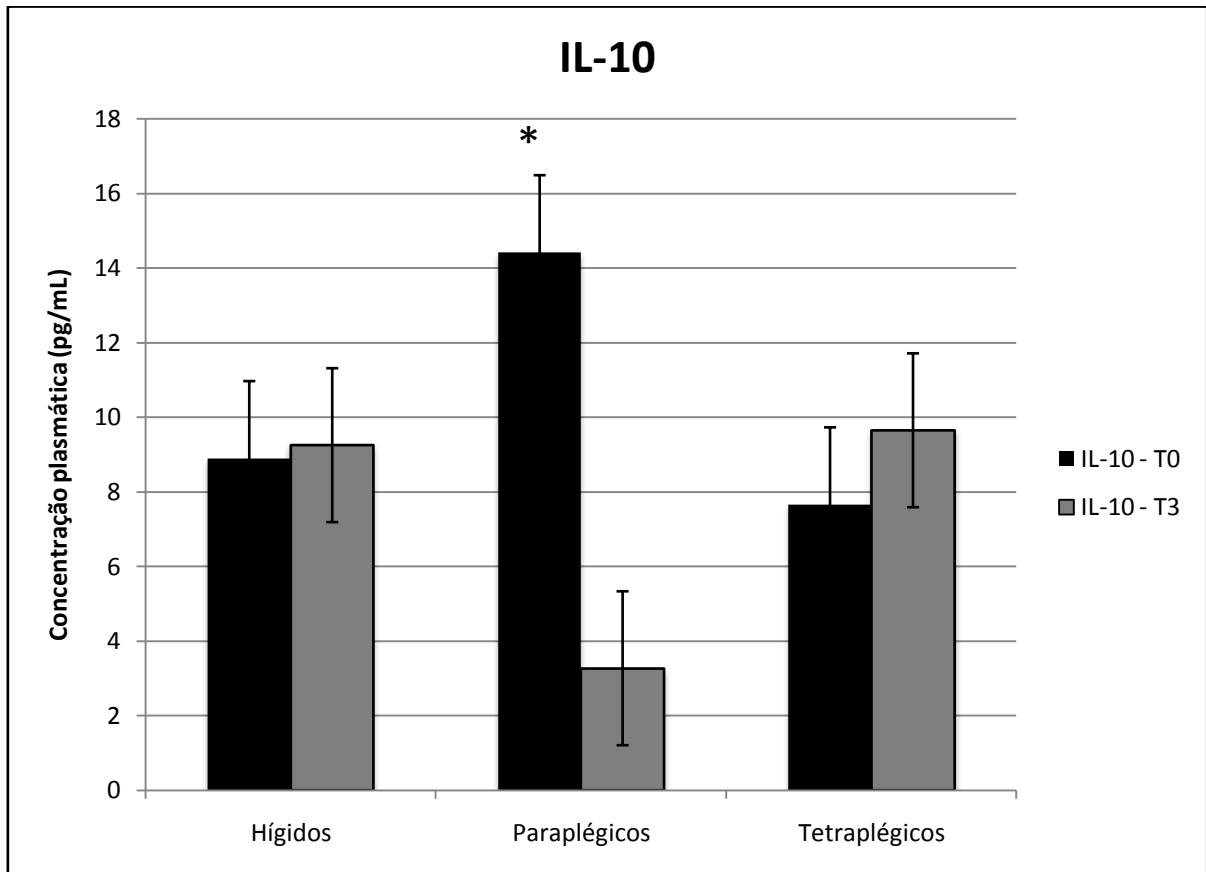


FIGURA 25 Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para a citocina antiinflamatória IL-10, em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe. Valores apresentados como Média \pm Desvio Padrão, considerando significância para $p < 0.05$. Abreviaturas: IL-10 = interleucina 10; pg/mL = picogramas por mililitros.

A Figura 26 demonstra que tanto entre quanto intra grupos não houve diferença para TNF- α .

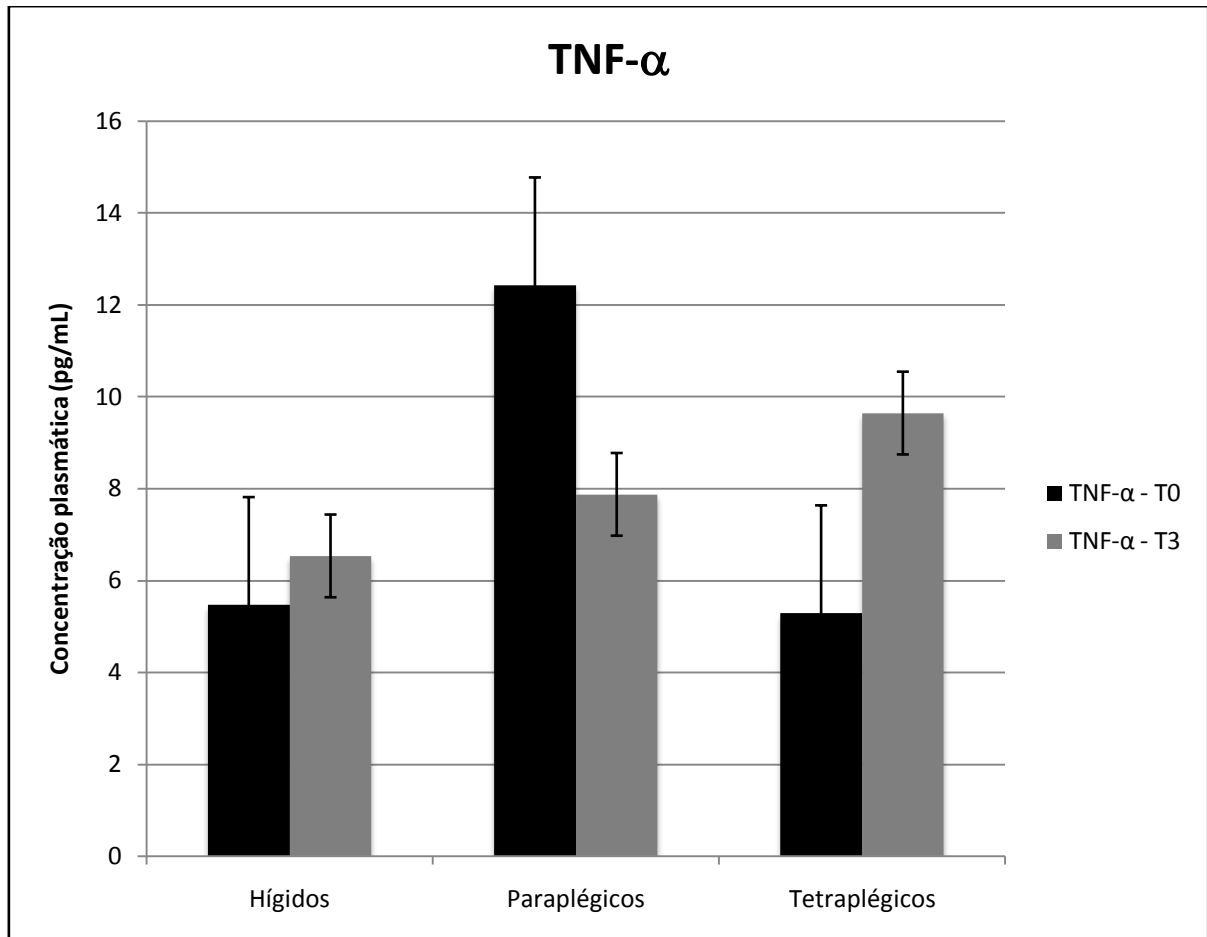


FIGURA26 Comparação de T0 e T3 entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para a citocina pró inflamatória TNF- α em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe. Valores apresentados como Média \pm Desvio Padrão, considerando significância para $p < 0.05$. Abreviaturas: TNF- α = Fator de Necrose Tumoral alfa; pg/mL = picogramas por mililitros.

INF- γ também pró inflamatório, não apresentou diferença significativa quando a análise foi feita tanto entre quanto intra grupos. (Figura 27).

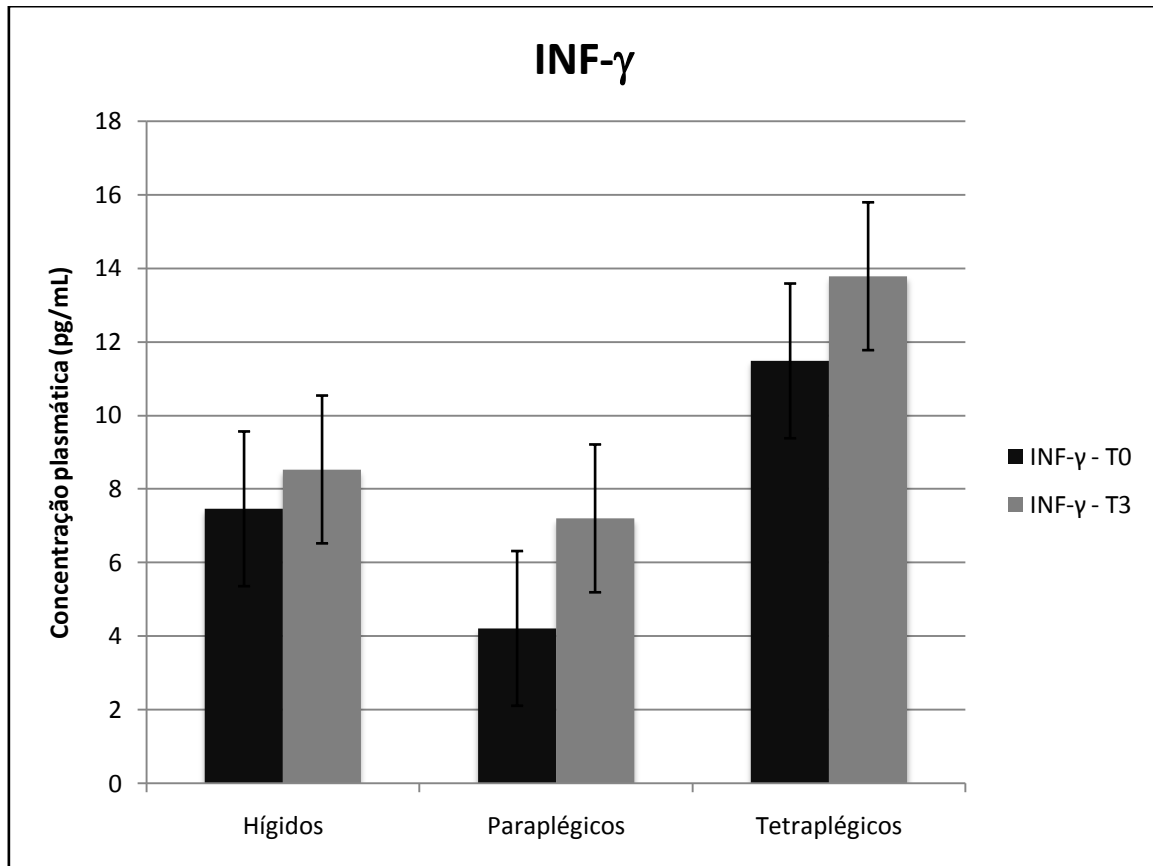


FIGURA27 Comparação de T0 e T3, entre os grupos Hígido (N=10), Paraplégico (N=11) e Tetraplégico (N=11) para a citocina pró inflamatória INF- γ em pg/mL no plasma, após 3 meses de suplementação com óleo de peixe. Valores apresentados como Média \pm Desvio Padrão, considerando significância para $p < 0.05$. Abreviaturas: INF- γ = Interferon gama; pg/mL = picogramas por mililitros.

6.3.5 Concentração de Ácidos Graxos no Plasma

Durante três meses de suplementação cada participante ingeriu em média 180 cápsulas de OP, sendo duas por dia, o que perfaz dois gramas. As cápsulas de OP utilizadas neste estudo foram doadas pela Empresa NaturalisNutrição e Farma Ltda, sendo que a quantidade necessária para a pesquisa foi enviada em três remessas. Os participantes deste estudo foram todos suplementados com cápsulas do mesmo lote de fabricação, e a quantidade de EPA e DHA foi verificada por cromatografia líquida de alta performance.

Foi verificado a presença de 26% de EPA e 19% de DHA em cada cápsula, o que em 1000mg seria o equivalente a 260mg de EPA e 190mg de DHA. Com isso, cada indivíduo foi suplementado com 520mg de EPA e 380mg de DHA por dia.

Os demais ácidos graxos presentes em cada cápsula com as devidas porcentagens foram Araquidônico, Linoléico, Linolênico e Esteárico com 1% cada, Láurico 7%, Oléico 9%, Palmitoléico 10%, Mirístico 11% e Palmítico 14%. Portanto, para avaliar se houve incorporação de EPA e DHA a quantidade de cada ácido graxo presente no plasma dos indivíduos suplementados tanto no tempo zero (T0) quanto no terceiro mês de suplementação (T3) foi mensurada por cromatografia líquida de alta eficiência.

Para mensurar o percentual de concentração de cada ácido graxo a somatória das medidas de cada ácido graxo presente na leitura foi utilizada, sendo que esta análise foi realizada para cada participante separadamente. Para posteriores análises estatísticas as médias de cada ácido graxo foi computada por grupo sendo que estes dados estão na tabela 18.

TABELA 18 Concentração de Ácidos Graxos(%) nas amostras de plasma coletadas antes do início da suplementação com OP (T0) e ao final de três meses (T3). Os participantes foram separados nos grupos Hígidos, Paraplégico e Tetraplégicos.

	GRUPO	HÍGIDO	PARA	TETRA	TOTAL
T0	Láurico (12:0)	1,50 ±1,65	1,40 ± 3,13	7,00 ± 12,97	3,54 ±8,29
	EPA (20:5 n-3)	0,00	0,00	0,00	0,00
	DHA (22:6 n3)	0,50 ±1,08	0,80 ± 1,79	00,00	0,38 ±1,06
	Araquidônico (20:4 n6)	12,10 ± 2,69	12,40 ± 2,88	8,33 ± 6,54	10,75 ±4,78
	Linoléico (18:2 n-6)	33,60 ± 4,12	33,00 ± 4,80	30,78 ± 5,50	32,42 ±4,78
	Palmítico (16:6)	26,30 ± 3,66	28,20 ± 3,03	29,33 ± 6,67	27,83 ±4,93
	Oléico (18:1 n-9)	20,00 ± 3.94	17,60 ± 1,67	18,11 ± 2,62	18,79 ±3,18
	Esteárico (18:0)	5,90 ± 2,64	6,60 ± 4,10	6,22 ± 5,09	6,17 ±3,84
T3	Láurico (12:0)	5,10 ± 12,32	4,00 ± 3,94	2,11 ± 2,93	3,75 ±8,18
	EPA (20:5 n-3)	0,20 ± 0,63	1,00 ± 1,00	0,44 ± 0,73	0,46 ±0,78
	DHA (22:6 n3)	1,80 ± 1,87	2,40 ± 2,30	2,44 ± 3,01	2,17 ±2,35
	Araquidônico (20:4 n6)	10,20 ± 4,80	9,20 ± 5,26	11,11 ± 2,42	10,33 ±4,05
	Linoléico (18:2 n-6)	30,50 ± 6,88	30,80 ± 3,11	30,67 ± 4,69	30,62 ±5,28
	Palmítico (16:6)	25,80 ± 3,36	26,40 ± 1,52	26,22 ± 2,17	26,08 ±2,55
	Oléico (18:1 n-9)	20,10 ± 2,89	20,40 ± 2,70	21,22 ± 2,68	20,58 ±2,70
	Esteárico (18:0)	6,20 ± 3,39	5,80 ± 1,10	5,67 ± 1,58	5,92 ±2,38

Os valores representam a média ± DP.

A presença de EPA em T0 demonstrou estar ausente nas amostras de todos os grupos, já após a suplementação ocorreu a detecção de EPA, porém este aumento não foi significativo.

A presença do DHA no plasma foi detectado em T0 nos grupos Hígido e Paraplégico, sendo que no grupo Hígido no T3 houve aumento de 3 vezes, e ao aplicar o teste *t* para medidas pareadas verificou-se que esta diferença era significativa $t(9) = -3,074$, $p < 0,05$. No grupo Paraplégico, apesar do aumento a

diferença nas concentrações de DHA não foi significativa. No grupo Tetraplégico o DHA não foi detectado na leitura do T0 porém a porcentagem foi de aproximadamente duas vezes e meia maior em T3, e quando aplicado o teste estatístico verificou-se que este aumento foi significativo $t(8) = -2,441$, $p < 0,05$.

A concentração de ácidos graxos saturados não sofreram alterações durante o período de suplementação com OP em nenhum dos grupos analisados. O ácido graxo Oléico aumentou significativamente somente no grupo Tetraplégico $t(8) = -3,500$, $p < 0,05$.

Outra forma de analisar as alterações encontradas nas concentrações (%) dos ácidos graxos é verificar o índice de insaturação das amostras (tabela 19).

TABELA19 Índice de Insaturação Pré e Pós suplementação com Óleo de Peixe por 90 dias.

GRUPO	Índice de Insaturação T0	Índice de Insaturação T3
HÍGIDO	119,00±19,67	113,00±27,78
PARA	120,60±20,15	117,20±30,31
TETRA	95,33±34,41	123,33±18,65*
TOTAL	110,46±27,88	117,75±24,59

Os valores representam a média ± DP. * $p < 0,05$ vs. T0

O teste t para medidas pareadas foi realizado para a média total entre os dois tempos de insaturação, sendo não foi encontrada diferença significativa. Ao ser realizado o teste t para medidas pareadas da média da insaturação entre pré e pós suplementação para cada grupo separadamente, encontrou-se diferença significativa para o grupo Tetraplégico $t(8) = -3,531$, $p < 0,01$ devido ao aumento de 28% no índice de insaturação de T0 para T3. No grupo Hígido e Paraplégico, não ocorreram diferenças significativas após suplementação.

Na tabela20 arazão n-3/n-6 das amostras coletadas antes do início da suplementação com Óleo de Peixe (T0) e ao final desta estão descritos para cada

indivíduo suplementado. A diferença encontrada na concentração de n-6 e n-3 após a suplementação (T3) também foi descrita na mesma tabela.

O valor de n-6 é calculado pela somatória da porcentagem de AGPI n-6 presentes na amostra e o mesmo processo é realizado para o valor den-3, sendo que para este a somatória realizada é com todos os AGPI da família n-3 presentes na amostra.

Para critério de informação, a porcentagem de n-6 foi a soma de ácido graxo Linoleico e Araquidônico, e a porcentagem de n-3 nas amostras avaliadas foi a soma de EPA e DHA, portanto, se fossemos calcular a porcentagem de n-6 ingerido em uma cápsula de OP seria 2 e de n-3 seria 45, portanto em cada cápsula a razão n-6/n-3 encontrada foi de 2:45 ou de 0,04.

Após a suplementação, as alterações constatadas em n-6 foram diminuição do percentual de concentração em 16 participantes e aumento em 8 participantes. Por outro lado, em 15 participantes a porcentagem de n-3 sofreu aumento enquanto manteve-se sem detecção em 9 participantes.

Do total, treze participantes demonstram diminuição em n-6 e aumento em n-3, quatro participantes do grupo Tetraplégico com lesões acima de C6 tiveram aumento médio de 30% em n-6 e não apresentaram mudança em n-3. Entre os demais participantes que não apresentaram n-3 nas amostras de plasma após a suplementação dois hígidos e um paraplégico tiveram diminuição no n-6 e um hígido e um paraplégico tiveram aumento no n-6. Além destes, dois participantes do grupo Hígido apresentaram aumento em ambas famílias n-6 e n-3.

TABELA 20 Razão n-6/n-3 das amostras Pré e Pós suplementação com Óleo de Peixe por 90 dias de cada indivíduo suplementado.

Participantes	Nível de Lesão/ Aptidão Física	Razão n-6/n-3 T0	Razão n-6/n-3 T3	Diferença n-6 entre T0 e T3 %	Diferença n-3 entre T0 e T3 %
2	HÍGIDO / SED	53:0	43:3	↓ 19	↑ 300
3	HÍGIDO / SED	51:3	46:6	↓ 9	↑ 300
5	HÍGIDO / SED	39:0	40:3	↑ 4	↑ 300
10	HÍGIDO / SED	51:2	34:5	↓ 34	↑ 250
16	HÍGIDO / SED	50:0	48:0	↓ 4	0
17	HÍGIDO / SED	42:0	22:0	↓ 47	0
18	HÍGIDO / SED	48:0	46:2	↓ 4	↑ 200
25	HÍGIDO / SED	37:0	43:0	↑ 17	0
28	HÍGIDO / SED	45:0	39:1	↓ 12	↑ 100
44	HÍGIDO / SED	44:0	46:2	↑ 3	↑ 200
4	PARAPLÉGICO / FA	52:0	42:4	↓ 18	↑ 400
7	PARAPLÉGICO / FA	47:0	40:6	↓ 16	↑ 600
12	PARAPLÉGICO / FA	43:4	40:7	↓ 6	↑ 180
14	PARAPLÉGICO / FA	52:0	34:0	↓ 35	0
22	PARAPLÉGICO / SED	34:0	44:0	↑ 29	0
1	TETRAPLÉGICO / SED	39:0	36:5	↓ 6	↑ 500
8	TETRAPLÉGICO / SED	52:0	40:6	↓ 24	↑ 600
13	TETRAPLÉGICO / SED	50:0	41:3	↓ 19	↑ 300
20	TETRAPLÉGICO / SED	28:0	39:0	↑ 37	0
21	TETRAPLÉGICO / SED	29:0	44:0	↑ 50	0
26	TETRAPLÉGICO / SED	36:0	47:0	↑ 29	0
27	TETRAPLÉGICO / SED	22:0	48:0	↑ 113	0
30	TETRAPLÉGICO / SED	50:0	38:9	↓ 25	↑ 900
46	TETRAPLÉGICO / SED	46:0	44:4	↓ 5	↑ 400

Após as análises dos efeitos da suplementação com OP nas concentrações dos ácidos graxos nas amostras, o lipidograma foi verificado para averiguar se estes

parâmetros sofreram influência da suplementação. Não houve modificação no perfil lipídico sanguíneo nos grupos analisados antes e após suplementação, bem como os valores encontrados ficaram dentro dos valores normalmente encontrados em população sedentária ($p>0,05$). Os dados analisados estão apresentados na tabela 21.

TABELA 21 Lipidograma Pré e Pós suplementação com Óleo de Peixe por 90 dias para a média de cada grupo .

Grupo	HÍGIDO	PARA	TETRA	TOTAL
Colesterol T0	178 ± 28	168 ± 20	170 ± 49	173 ± 35
Colesterol T3	176 ± 33	184 ± 8	168 ± 43	175 ± 34
Triglicerídeos T0	129 ± 98	116 ± 53	110 ± 81	119 ± 81
Triglicerídeos T3	101 ± 75	126 ± 57	109 ± 71	109 ± 68
HDL T0	50 ± 11	40 ± 7	39 ± 5	44 ± 10
HDL T3	46 ± 11	39 ± 4	40 ± 5	43 ± 8
LDL T0	96 ± 33	105 ± 12	110 ± 40	103 ± 32
LDL T3	112 ± 35	120 ± 10	111 ± 40	113 ± 33

Os valores representam a média ± DP.

O teste t para medidas pareadas foi realizado para as médias dos grupos separadamente, sendo que nenhuma das diferenças encontradas nos grupos foi significativa.

6.4 DISCUSSÃO

De forma simplificada podemos dividir o sistema imunitário em imunidade inata e adaptativa, sendo que a imunidade inata é reponsável pela primeira linha de defesa contra agentes infecciosos, tendo como principal função impedir a entrada de patógenos no organismo e se necessário eliminá-los rapidamente com a ativação das células fagocíticas (macrófagos e neutrófilos). Os receptores Toll-like localizados na superfície das células fagocíticas são capazes de sinalizar em resposta aos proteoglicanos bacterianos ou lipopolissacarídeos, promovendo ativação do fator de transcrição nuclear κB e indução de diversos genes, como aqueles para citocinas, quimiocinas e moléculas co-estimuladoras, que são importantes para o início da resposta adaptativa (Calder, 2015; Miles e Calder, 2015; Walker *et al.*, 2015).

Já na imunidade adaptativa a resposta protetora é gerada pelos linfócitos, os quais aumentam a sua ativação em função da exposição ao patógeno. Após o encontro com antígeno, ocorre o processo de proliferação ou expansão dos linfócitos, aumentando o número de células capazes de responder a este patógeno. Os linfócitos podem ser classificados em linfócitos B, linfócitos T e células natural killer (NK). Os linfócitos B, responsáveis pela imunidade humoral, sofrem o processo de maturação na própria medula onde são produzidos, e saem deste compartimento prontos para desempenhar o seu papel de células apresentadoras de antígeno e secretoras de anticorpo (Silverthorn, 2010).

Os linfócitos T amadurecem no timo e podem se tornar células T citotóxicas, que expressam a molécula de superfície celular CD8, ou células T auxiliares, que expressam a molécula de superfície chamada CD4. Linfócitos T citotóxicos reconhecem a inflamação intracelular e tem por função destruir as células infectadas enquanto as células T auxiliares coordenam a resposta imunológica e dividem-se em células T auxiliares tipo 1 (Th1) que secretam interleucina 2 e IFN- γ , e células T auxiliares tipo 2 (Th2) que secretam interleucina 4, 5, 6, e 10. Desta forma pode-se dizer que as células Th1 auxiliam na imunidade celular por ativar macrófagos e células T citotóxicas, enquanto células Th2 auxiliam as células B a produzirem anticorpos (Silverthorn, 2010).

Portanto, as citocinas são reguladoras de respostas a infecção, a alterações imunitárias, inflamação e trauma. Algumas citocinas agem no processo de indução do estado inflamatório (pró-inflamatórias), enquanto outras servem para reduzir inflamação e promover cura (antiinflamatórias). Atenção tem sido dada para bloquear certas citocinas, as quais são danosas ao hospedeiro, particularmente durante infecções severas. As interleucinas IL-2, IL-6, TNF- α e INF- γ são citocinas pró-inflamatórias que podem induzir febre, inflamação, danos em tecidos e em alguns casos choque séptico e morte (Dinarello, 2012). Em contrapartida, citocinas antiinflamatórias, como IL-4 e IL-10 apresentam entre suas funções reduzir infecções de maneira eficaz.

Vale lembrar que as citocinas podem ser ativadas ou suprimidas por diversos estímulos e que além disto, a mesma citocina pode ter funções diferentes dependendo do órgão em que está sendo produzida, da capacidade de produção e do tipo de ocorrência que estimulou esta produção. Assim, quando as concentrações das citocinas são analisadas deve-se levar em conta as características da população que está sendo estudada bem como qual é a pergunta a ser respondida (Campagnolo *et al.*, 2000; Campagnolo *et al.*, 2008; Silverthorn, 2010).

Portanto, análise das concentrações das citocinas em uma população como a de LM, deve levar em conta pelo menos os quatro fatores citados abaixo bem como as suas interrelações.

Nível de aptidão física

Os níveis de AF em lesados medulares são mais baixos do que na população em geral, e ocorrem por fatores como a dificuldade em estabelecer uma rotina de exercícios pelas constantes comorbidades associadas (infecções de trato urinário, hipotensão postural, maior propensão a gripes e infecções e distúrbios gastrointestinais) as quais são mais frequentes quanto maior o nível da lesão (Amir *et al.*, 1998; Haskell *et al.*, 2007; Dedeic-Ljubovic *et al.*, 2009), além da dificuldade em encontrar locais adaptados para a prática de AF e profissionais especializados.

Os achados dos estudos citados acima estão de acordo com o que encontramos nos participantes deste estudo, sendo que dos 22 lesados medulares que iniciaram a pesquisa, somente 14 terminaram a fase de suplementação. Entre estes um dos oito tetraplégicos praticava AF, já entre os cinco paraplégicos quatro praticavam AF regular, o que confirma a relação entre a prática de AF e o nível da lesão.

Redução da massa muscular e perda óssea

Outra característica desta população é a redução da massa muscular e consequente perda óssea que começa logo após a LM. O declínio no volume muscular e consequente falta de ortostatismo após LM, tem como consequência a diminuição do estresse mecânico no osso (tração e compressão), o que é considerado um dos motivos de diminuição substancial da estrutura óssea acarretando em osteopenia/ou osteoporose na região lombar, femural e tibial.

Outros fatores que aceleram a perda óssea após LM são alterações neurovasculares secundárias a afecções do sistema nervoso autônomo, resistência ao fator de crescimento tipo 1 e seu decréscimo (Rodriguez *et al.*, 1989) e alterações estruturais do colágeno, induzindo ao aumento de sua reabsorção (Roberts D *et al.*, 1998; Brito *et al.*, 2002). Estudo realizado por Uebelhart *et al.* avaliou histomorfometricamente amostras ósseas da crista ilíaca de pacientes com LM, e evidenciou aumento da reabsorção e redução da formação óssea, além de aumento do conteúdo de tecido gorduroso do osso (Uebelhart *et al.*, 1995). Esta perda óssea foi demonstrada girar em torno de 0,9 até 2% ao mês, durante os primeiros meses após LM (Modlesky *et al.*, 2005; Slade *et al.*, 2005; Alekna *et al.*, 2008), sendo que estudos verificaram que nos 2 primeiros anos após LM pode ocorrer redução de até 40% de massa óssea nos membros inferiores (MMII) (Biering-Sorensen F *et al.*, 1990; De Bruin Ed *et al.*, 1999; De Bruin Ed *et al.*, 2000; Frey-Rindova P *et al.*, 2000), e que a densidade trabecular óssea pode apresentar redução de 50 a 70% em indivíduos com LM, quando comparados à hígidos na mesma faixa etária (Eser P *et al.*, 2004).

Esta mesma intensidade de perda acontece com as fibras musculares, que reduzem drasticamente após a LM (Castro *et al.*, 1999; Dudley *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2000). Além desta perda de massa magra, o acúmulo de tecido adiposo no lugar do músculo tem sido estudada na LM como um dos agentes causadores de processos como inflamação crônica, resistência a insulina e síndrome metabólica (Campagnolo *et al.*, 2000; Campagnolo *et al.*, 2008)

De fato, evidências demonstram a importância do músculo esquelético, principalmente da musculatura ativada por exercícios físicos, na produção de citocinas com efeito antiinflamatório, como por exemplo a IL-6, quando produzida no músculo (Roubenoff *et al.*, 2003). Esta mesma citocina, quando produzida no tecido adiposo é uma das responsáveis pelo desencadeamento da resistência a insulina iniciada pela diminuição da sensibilidade à esta, além de ser uma das mantenedoras do processo inflamatório crônico de baixa intensidade, o que vem de encontro com os estudos em LM(O'shea *et al.*, 2002; Roubenoff *et al.*, 2003; Dinarello, 2012)

Distúrbios do Sistema Nervoso Autônomo

As alterações comuns relacionadas à interrupção ou funcionamento anormal do sistema nervoso autônomo (SNA - encontrado em níveis de LM acima da quinta/sexta vertebra torácica) são a disreflexia autonômica (Karlsson, 1999; Karlsson e Karlsson, 2006; Krassioukov *et al.*, 2007), disfunção da termorregulação (Attia e Engel, 1983; Schmidt e Chan, 1992), distúrbios neuro-imuno-endócrinos(Campagnolo *et al.*, 2008), e alterações do controle cardiovascular (Furlan *et al.*, 2008) entre outros. Estas alterações acarretam também importantíssimas disfunções do funcionamento fisiológico e metabólico em pessoas com LM, causando consequências severas para essa população, reduzindo tanto a qualidade de vida quanto a longevidade desses indivíduos (Garstang *et al.*; Karlsson e Karlsson, 2006; Alexander, 2008).

Um dos pontos de interesse do SNA neste estudo, é o seu papel no controle direto sobre o tecido adiposo, sendo que a inervação simpática relaciona-se com a lipólise que é mediada pelos receptores beta-adrenérgicos e dependente da atividade da enzima lipase hormônio-sensível (LHS), e a parassimpática envolve-se

com os efeitos anabólicos sobre os depósitos adiposos, como a captação de glicose e de ácidos graxos estimulada pela insulina (Garstang *et al.*; Campagnolo *et al.*, 2000; Alexander, 2008; Baguley e Baguley, 2008).

Devido aos distúrbios do SNA na LM, que podem variar desde o não funcionamento completo, o funcionamento de uma única inervação (somente simpática ou parassimpática) ou alterações de intensidade e frequência da resposta aos estímulos dados à este sistema, as alterações das funções do sistema imunitário variam muito entre os indivíduos e tendem a piorar com o tempo de lesão, envelhecimento, aumento de IMC e diminuição de AF (Campagnolo *et al.*, 2000; Alexander, 2008; Popovich *et al.*, 2009).

Acúmulo de tecido adiposo branco (TAB)

Finalmente, o acúmulo de TAB é um dos pontos que norteará algumas hipóteses que serão lançadas para responder as alterações encontradas nas citocinas. O tecido adiposo vem sendo considerado um órgão dinâmico que envolve-se em inúmeros processos metabólicos e fisiológicos, sendo que diversos estudos classificam as propriedades do tecido adiposo conforme as suas características, de propriedades mais ou menos inflamatórias (Bauman e Spungen, 2000; 2001b; 2008).

Vale lembrar, que além do acúmulo de TAB nos locais usuais o lesado medular após a perda da função muscular começa a depositar tecido adiposo de forma gradativa e constante entre as fibras musculares (Elder *et al.*, 2004; Gorgey e Dudley, 2007; Dolbow e Gorgey, 2016)

Um dos fatores comentados neste estudo foi a má alimentação unida ao sedentarismo, e consequente aumento do tecido adiposo. Entre os fatores ligados à má alimentação tem-se o aumento da ingestão de ácidos graxos saturados, que favorece a ativação da resposta inflamatória e aumento do risco de aparecimento de DCNT. Entre estes ácidos graxos saturados encontra-se o ácido graxo palmítico, que aumenta a expressão e secreção de IL-6 e TNF- α (Roubenoff *et al.*, 2003; Numerof *et al.*, 2005; Dinarello, 2012).

Resumidamente, o recrutamento e a infiltração de macrófagos no tecido TAB desencadeiam inflamação local que está correlacionada ao aumento da concentração plasmática de IL-6 e TNF- α . Sendo que a expressão e secreção de TNF- α em obesos correlaciona-se positivamente com o aumento do volume de adipócitos (Chen *et al.*, 2006; Minihane *et al.*, 2015).

Em contrapartida, suplementação com OP pode reduzir a produção de citocinas antiinflamatórias. Estudos já demonstraram a redução em todas citocinas antiinflamatórias após suplementação com OP em populações de jovens e idosos, com a maior queda sendo em idosos: a síntese de IL-1p foi reduzida em 48% nos indivíduos jovens e 90% nos idosos. TNF foi reduzido em 58% em jovens e 70% nos idosos, IL-6 reduziu 30% nos jovens e 60% nos idosos e a IL-2, um fator de crescimento de célula T necessária para ativação linfocitária, foi produzida em uma quantidade significativamente maior em idosos e também em jovens (Roubenoff *et al.*, 2003; Walker *et al.*, 2015). Esta capacidade anti-inflamatória dos AGPIs da série n-3, EPA e DHA, presentes no OP tem origem na diminuição da atividade dos fatores de transcrição NF- κ B e proteína ativadora-1 (AP-1) (Curi, 2009; Curi *et al.*, 2002).

Neste estudo, as concentrações basais das citocinas analisadas não apresentaram diferenças significativas importantes quando os grupos Paraplégico e Tetraplégico foram comparados com o grupo Hígido, o que pode ter como fator modulador deste resultado o fato de que o grupo dos hígidos era formado por indivíduos sedentários que foram pareados por estatura, peso e idade. Idealmente um grupo de indivíduos hígidos fisicamente ativos certificaria se as concentrações de citocinas encontradas no hígidos sedentários tem relação com sedentarismo ou estão alteradas por outros motivos. Estudos que analisaram as concentrações de citocinas em indivíduos saudáveis demonstram grande variação destas, sendo que estas variações ocorrem em grupos da mesma idade porém são mais expressivas quanto maior a idade dos avaliados. Outro ponto verificado é a alteração das concentrações conforme o horário em que a coleta foi realizada (Arvidson *et al.*, 1994; Lissoni *et al.*, 1998; De Jager *et al.*, 2009).

Dos artigos que relacionam citocinas e LM nenhum as mensurou em humanos nem relacionou estas citocinas com fatores bioquímicos e parâmetros antropométricos. A maioria destes estudos analisam a influência das citocinas na dor neuropática e na regeneração neural, tanto com o bloqueio quanto com a estimulação destas e a maior parte dos estudos eram em modelos experimentais (Huo *et al.*, 2012; Thompson, C. D. *et al.*, 2013; Baastrup *et al.*, 2014).

Não foram encontradas correlações entre os parâmetros do hemograma pré e pós suplementação e as concentrações de citocinas encontradas em nenhum dos grupos analisados. Estas diferenças encontradas em alguns estudos são específicas de parâmetros que não foram analisados em nosso estudo ou feitas em populações com patologias auto-imunes, muitas destas observações de alterações foram encontradas em estudos com AIDS (Bastos *et al.*, 2009; Selimova *et al.*, 2016)

Nos grupos Paraplégico e Tetraplégico foram encontradas correlações positivas entre IMC, circunferência abdominal e RCQ que indicam aumento de TAB porém não houve correlação com $\text{TNF-}\alpha$. Talvez isto ocorreu devido à grande parte dos participantes estarem na faixa do sobrepeso e estas correlações terem sido encontradas somente em obesos (Gomes *et al.*, 2010; Espinola-Klein *et al.*, 2011; Maurovich-Horvat *et al.*, 2015).

Observa-se que as citocinas IL-2 e $\text{INF-}\gamma$ sofreram aumentos em todos os grupos e tem em comum serem secretadas por células T auxiliares tipo 1, no entanto, $\text{TNF-}\alpha$ aumentou nos grupos Hírido e Tetraplégico e diminuiu no Paraplégico. Entre as citocinas secretadas pelas células T auxiliares tipo 2, a IL-4 também aumentou em todos os grupos, por outro lado a IL-6, IL-10 e tiveram o mesmo padrão de mudança, aumentando nos grupos Hírido e Tetraplégico e reduzindo no grupo Paraplégico.

A IL-2 é o principal fator de crescimento para as células T, atuando como a ativadora de linfócito B, linfócito T citotóxico e macrófagos além de funcionar como neurotransmissora. Sabe-se que esta interleucina é secretada pelos linfócitos T ativados e é responsável por induzir a expansão clonal destas células. Assim, o

aumento na produção de IL-2 por linfócitos pode normalizar a função imunológica dependente desta citocina. Desta forma, o aumento na liberação de IL-2 como efeito do exercício pode contribuir na restauração do número de células T virgens que normalmente diminuem com o envelhecimento e sedentarismo, sendo que isto explicaria o aumento de mais de 200% da IL-2 no grupo paraplégicos comparado com o aumento de 100% em hígidos e menos de 10% em tetraplégicos.

A IL-6 e TNF- α tiveram o mesmo tipo de comportamento após 3 meses de suplementação, porém as alterações em IL-6 foram maiores que em TNF- α . No grupo Hígido e Tetraplégico estas citocinas aumentaram, e no grupo paraplégico diminuíram. Levando em conta o nível de AF destes grupos pode-se relacionar a diminuição destas citocinas pró-inflamatórias ao fato de que o grupo de hígidos era fisicamente ativo, e sabe-se por meio de outros estudos que o exercício a longo prazo potencializa os efeitos benéficos do OP (Lissoni *et al.*, 1998; Bruunsgaard, 2002; O'shea *et al.*, 2002). O

TNF- α exerce várias funções no sistema imunitário, tanto como citocina pró-inflamatória quanto como modulador das respostas imunitárias adaptativas. Alterações no eixo Hipotálamo-pituitário-tireóide podem responder direta e indiretamente as funções da tireóide em diferentes níveis, sendo que podem alterar a secreção de TNF- α , podendo explicar o aumento de 80% no grupo Tetraplégico.

Além disto, TNF- α e IL-6 são citocinas que ativam a produção de osteoclastos que por sua vez aumentam o processo de desmineralização óssea e por conseguinte potencializam o aparecimento da osteoporose, que é umas das comorbidades presentes na LM (Boutzios e Kaltsas, 2000).

Outros estudos demonstraram a importância do SNA na secreção das catecolaminas como cortisol, adrenalina e noradrenalina para a ativação tanto de IL-6, IL-10 quanto de TNF- α com a função de imunomodular processos de estresse fisiológico como por exemplo exercício físico intenso ou sepsis como demonstrado em estudo de Pedersen & Febbraio (2008) (Pedersen e Febbraio, 2008; Ball, 2015).

Vale ressaltar que quanto maior o nível e severidade da LM maiores são os comprometimentos do SNA os quais foram discutidos acima (Petrovsky *et al.*, 1998; Popovic *et al.*, 2005; Popovich *et al.*, 2009).

INF- γ também demonstrou aumento comparando T0 e T3. Os grupos Hígido e Tetraplégico apresentaram a citocina INF- γ com aumentos na proporção de 20%, entretanto no grupo Paraplégico, o INF- γ aumentou 70 % em relação ao que era em T0. A principal atividade do INF- γ é imunomoduladora, sendo que ele auxilia a inibição da proliferação das células que sintetizam IL-4, IL-6, e IL-10.

Se relacionarmos a atividade do INF- γ de estimular a imunidade mediada por fagócitos, com a diminuição de sua concentração no organismo tem-se uma redução de macrófagos e neutrófilos tornando o indivíduo mais suscetível à infecções. Portanto os aumentos encontrados no INF- γ demonstram o efeito imunomodulador do OP, pois teoricamente contribuem para o aumento da resistência à infecções (De Pablo *et al.*, 2000; Kris-Etherton P. M. *et al.*, 2003).

A IL-4 teve aumento em todos os grupos, sendo que teve aumento de 22% no Paraplégico, 70% no Hígido e 102% no Tetraplégico. A atividade principal desta interleucina é determinar o perfil da resposta imunológica em Th2, sendo o seu efeito antagonizado pelo INF- γ . Em estudo com camundongos obesos a IL-4 estava aumentada, evitando o aparecimento de diabetes, que ocorreu nos camundongos sem a citocina IL-4 ativada. Outro estudo com gêmeos verificou que os irmãos que apresentavam diabetes tinham somente citocina INF- γ circulante, enquanto os irmãos sem diabetes apresentavam tanto IL-4 quanto INF- γ (Boutzios e Kaltsas, 2000; Kenney e Ganta, 2014).

Por fim, a Interleucina 10 que é produzida pelos macrófagos ativados e células Th2 e é predominantemente uma citocina inibidora. O efeito da interleucina 10 é inibir a síntese de outras citocinas como INF- γ , IL-2, IL-12 e TNF- β , além de inibir a produção de TNF- α por monócitos e células T do tipo 1. Esta citocina é produzida principalmente pelas células CD8+ ativadas, mas também podem ser provindas de células Th0, Th1 e Th2 ativadas.

Com a suplementação com óleo de peixe teoricamente a IL-10 teria que aumentar, ou manter suas concentrações se as citocinas pró-inflamatórias fossem reduzidas, levando em conta que o efeito da interleucina 10 é inibir a síntese de outras citocinas como INF- γ , IL-2 e TNF- α . Porém, neste estudo o que encontrou-se foi o aumento das citocinas que deveriam ser inibidas pela IL-10, a qual aumentou somente 26% no grupo Tetraplégico e diminuiu nos grupos Hígido e Paraplégico. Pode-se explicar a discreta concentração de IL-10 pelo aumento significativo de IL-2 por serem concorrentes(Woods *et al.*, 2006; Gomes *et al.*, 2010).

Os ácidos graxos influenciam uma série de processos biológicos que envolvem a comunicação celular, interações enzimáticas e atuações em cascatas bioquímicas envolvidas na produção de respostas específicas de processos fisiológicos (Simopoulos, 2000; 2006; Walker *et al.*, 2015)

Dentre os mecanismos que explicam o efeito modulatório do AGPI n-3 sobre o sistema imunológico estão a capacidade dos AGPI n-3 incorporar-se na membrana celular e assim modificar as interações proteínas/lipídios da membrana (Simopoulos, 2002; 2008b) e a capacidade do AGPI n-3 em alterar o metabolismo dos eicosanóides (EPA), servindo como substrato para a ciclooxigenase (COX) e a lipooxigenase (LOX), que geram eicosanóides com menor potencial inflamatório e desta forma podem modular o funcionamento de várias células do sistema imunológico (Lu *et al.*, 2006; Schwab e Serhan, 2006; Serhan *et al.*, 2006; Serhan *et al.*, 2007).

Ao observarmos as concentrações de AGPI da família n-3 e n-6, verificou-se que as únicas alterações estatisticamente significativas foram o aumento do percentual da concentração de DHA no grupo Hígido e Tetraplégico, porém deve-se levar em conta que todos os indivíduos foram submetidos às mesmas doses suplementares diárias e que estes ácidos graxos devem ter sido prontamente utilizados pelo organismo.

No caso do EPA sabe-se que este é incorporado com mais facilidade às membranas celulares modificando assim a composição das cadeias de AG dos fosfolipídios. Uma das hipóteses para a baixa detecção de EPA seria a constante absorção deste ácido pelas membranas celulares devido ao maior recrutamento de

novas células do sistema imunitário pelo processo inflamatório crônico que a população com LM apresenta.

Vale ressaltar que o aporte nutricional, o estado inflamatório e viroses podem alterar os efeitos da suplementação com OP, o que corrobora com a baixa detecção dos ácidos suplementados. A cada coleta de sangue feita neste trabalho os participantes respondiam a uma série de questões para identificar quaisquer mudanças que pudessem vir a comprometer o estudo, sendo que não houveram intercorrências que pudessem comprometer o estudo.

Outro ponto que vale comentar é que, apesar de não ter sido apresentado controle nutricional dos participantes, durante todo o tempo de suplementação foi realizado acompanhamento para pontuar quaisquer mudanças alimentares que pudessem influenciar o estudo, sendo que não houve mudanças na ingestão alimentar que pudessem comprometer os parâmetros avaliados. A não imposição de dieta nutricional foi elencada como uma das formas de avaliar o efeito da suplementação em condições cotidianas. Além disto, os participantes foram orientados a manter todas as medicações que faziam uso no início da pesquisa e a avisar se qualquer outro medicamento fosse utilizado durante o período de suplementação.

Além de manter este controle com os participantes, algumas perguntas foram realizadas para avaliar se a suplementação poderia exercer algum benefício visível aos participantes. Dentre estes critérios avaliados, cerca de 90% dos indivíduos relataram após o segundo mês de suplementação melhora na disposição, menos dores entre os tetraplégicos. Estes dois fatores e a diminuição de fadiga muscular foi relatada por todos. Outro ponto interessante foi a melhora no funcionamento intestinal após duas semanas de uso de OP relatado pelos participantes com LM, que devido à diminuição da motilidade intestinal tem dificuldade de evacuação e problemas gastrointestinais recorrentes.

Outro fator que demonstrou mudança positiva após o primeiro mês de suplementação nos participantes com LM foi a diminuição na quantidade e intensidade das infecções do trato urinário, que foram acompanhadas por exame de

urina mensal. Associado aos resultados da urinálise os participantes relataram alterações nos sintomas característicos de infecção de bexiga em lesados medulares, como diminuição de enjôos, dores no corpo, febres e perda de urina.

Portanto, constatou-se que os mecanismos com que o OP age dependem de inúmeros fatores que podem influenciar a função deste, sendo que nesta amostra populacional o OP agiu na produção de citocinas de uma maneira diferente das previamente vistas em outras populações e *in vitro*, atuando como imunomodulador.

Para finalizar, dentre as hipótese geradas para este estudo verificou-se que:

A hipótese 1 foi rejeitada, pois a razão omega6/omega3 nos participantes hígidos não estava mais próxima dos padrões considerados ideais.

A hipótese 2 foi rejeitada parcialmente, pelo fato de que existiram correlações entre os parâmetros bioquímicos e as concentrações de citocinas, porém estas não seguiram um padrão entre os grupos analisados.

A Hipótese 3 também foi rejeitada, pois não foram encontradas relações entre as concentrações das citocinas, idade, tempo de lesão, nível e severidade de LM.

A hipótese 4 também foi rejeitada pois a razão omega6/omega3 não teve mudanças significativas após 90 dias de suplementação.

A hipótese 5 foi aceita parcialmente por ter havido diminuição nas concentrações das citocinas pro-inflamatórias e aumento nas citocinas anti-inflamatórias em alguns grupo, porém não houve um padrão nesta mudança.

A hipótese 6 foi aceita parcialmente pelo aumento do índice de insaturação no grupo Tetraplégico após a suplementação.

6.5 CONCLUSÃO

A suplementação com OP causou alterações nas concentrações de citocinas que necessitam de maiores esclarecimentos, sendo que um ponto importante encontrado neste estudo foram os relatos dos participantes que demonstraram melhora geral da saúde após um mês de suplementação, tendo estas melhoras aumentado ao fim dos 3 meses de ingestão de OP.

Foi de concordância entre os participantes do grupo Hígido a diminuição em dores articulares, melhora da disposição e ausência de processos inflamatórios e gripes.

Já entre os lesados medulares a alteração mais relatada foi a diminuição das infecções urinárias, sendo que durante os meses de suplementação os participantes não tiveram infecções e nem os sintomas relacionados à estas. Fato este considerado de grande valor para a qualidade de vida destes indivíduos visto que a principal queixa entre eles na entrevista pré suplementação era a infecção crônica do trato urinário.

Outro fator em concordância com os achados nos indivíduos hígidos foi a melhora na disposição, sendo que dentre os nove tetraplégicos suplementados sete relataram que a partir do segundo mês de suplementação os episódios de fadiga muscular tinham diminuído substancialmente. Além disto, somente um dos entre os 14 lesados medulares apresentaram gripe nos meses de suplementação, sendo que eles comentaram que a intensidade desta foi menor do que usualmente.

Com isto, confirma-se a necessidade de analisar amplamente as queixas e mudanças decorrentes de intervenções nesta população, pois devido ao fato dos mecanismos que influenciam as comorbidades e a inflamação crônica de baixo grau não terem sido completamente elucidados faz com que os mecanismos de imunomodulação gerados pelo OP tenham que ser interpretados de maneira minuciosa.

CAPÍTULO 7

CONSIDERAÇÕES FINAIS

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A medula espinhal em humanos pode ser definida como uma complexa associação entre motoneurônios superiores e inferiores que tem função bidirecional, fazendo a conexão entre o cérebro e as estruturas motoras, sensoriais e autonômicas. Outra função primordial da medula espinhal é a sua capacidade de fazer a integração entre reflexos sensoriais com estruturas efectoras.

Esta complexa circuitaria, quando interrompida total ou parcialmente, pode levar a uma vasta gama de alterações motoras, sensitivas e autonômicas. Por este motivo, a LM é uma patologia tão divergente e complexa, onde vários tipos e graus de disfunções podem ser encontrados em lesões de mesmo nível segmentar, sendo estas alterações definidas pela quantidade e localização das estruturas neuronais afetadas, o que foi parcialmente demonstrado nesse trabalho.

A LM *per se* traz consequências avassaladoras, com altos níveis de morbidade e mortalidade, afetando diretamente a qualidade de vida do lesado medular. Além deste estado de saúde delicado, diversos estudos verificaram que fatores externos, como má alimentação e inatividade física, podem acelerar e maximizar estas condições patológicas, além de influenciar no aparecimento de outras. As dificuldades encontradas por esta população para manterem ou atingirem um nível de AF suficiente e aporte nutricional adequado para a manutenção ou promoção da saúde dessa população são alvo de diversas investigações que até o momento tem resultados inconclusivos.

Uma das hipóteses para esta dificuldade de encontrar os agentes desencadeadores da alta responsividade aos danos dos maus hábitos de vida é a grande diminuição de massa magra e o aumento exacerbado de massa gorda após a LM, o que propicia a constante inflamação subclínica. Além disto, a disfunção do SNA sendo este interrompido pela LM vem sendo levantado como uma das hipóteses para explicar esta mudança nos processos fisiológicos.

Infelizmente, o ponto de concordância entre pesquisadores que trabalham na identificação dos agentes desencadeadores de patologias é frágil, e portanto, a

busca de formas de prevenção de patologias secundárias, promoção da saúde e tratamento de comorbidades provindas da LM, ramifica-se em diversos caminhos, dificultando o consenso de pesquisadores, seja na bancada, seja na área clínica.

A divisão deste trabalho em três estudos reflete a dificuldade encontrada em trabalhar com indivíduos com LM. Sendo que além das dificuldades já mencionadas, a constante falta dos participantes devido à problemas relacionados as comorbidades da LM fez com que não fosse possível a manutenção de todos os participantes ao longo dos estudos.

Além disto, inicialmente o desenho experimental desta pesquisa visava realizar as mensurações dos estudos 1 e 2 em dois momentos, sendo antes da suplementação com OP e após os noventa dias de suplementação. Porém isto não foi possível pela dificuldade encontrada para o empréstimo e agendamento dos equipamentos necessários para as mensurações realizadas.

Portanto, não foi possível verificar se a suplementação com o OP teria algum efeito sobre os parâmetros bioquímicos sanguíneos analisados, tampouco sobre as características neuromusculares avaliadas.

Concluindo, a abordagem apresentada nesta tese é apenas uma pequena parte a ser explorada, na tentativa de tentar demonstrar os desafios em se identificar quais temas são mais urgentes, objetivando aumentar a longevidade com qualidade de vida, enquanto a cura definitiva não surge.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ACKERY, A. et al. A global perspective on spinal cord injury epidemiology. **Journal of Neurotrauma**, v. 21, n. 10, p. 1355-70, Oct 2004. ISSN 0897-7151.

AINSWORTH, B. et al. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 32, n. 9, p. 498-504, 2000.

AITO, S. et al. Neurological and functional outcome in traumatic central cord syndrome. **Spinal Cord**, v. 45, n. 4, p. 292-297, 2007. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000245758400004 >.

AKBAR, M. et al. Do overhead sports increase risk for rotator cuff tears in wheelchair users? **Arch Phys Med Rehabil**, v. 96, n. 3, p. 484-8, Mar 2015. ISSN 0003-9993. Disponível em: <[http://www.archives-pmr.org/article/S0003-9993\(14\)01157-5/abstract](http://www.archives-pmr.org/article/S0003-9993(14)01157-5/abstract)>.

ALEKNA, V. et al. Effect of weight-bearing activities on bone mineral density in spinal cord injured patients during the period of the first two years. **Spinal Cord**, v. 46, n. 11, p. 727-32, Nov 2008. ISSN 1362-4393.

ALEXANDER, M. S. Autonomic function and spinal cord injury: are we at a crossroads? **Spinal Cord**, v. 46, n. 6, p. 402-5, Jun 2008. ISSN 1362-4393.

ALEXANDER, M. S. et al. Outcome measures in spinal cord injury: recent assessments and recommendations for future directions. **Spinal Cord**, v. 47, n. 8, p. 582-91, Aug 2009.

AMIR, I. et al. Bowel care for individuals with spinal cord injury: comparison of four approaches. **J Spinal Cord Med**, v. 21, n. 1, p. 21-4, Jan 1998. ISSN 1079-0268 (Print) 1079-0268.

ANDERSON, D. K. et al. Recommended guidelines for studies of human subjects with spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 43, n. 8, p. 453-8, Aug 2005. ISSN 1362-4393.

ANEMA, J. R. et al. Multidisciplinary rehabilitation for subacute low back pain: graded activity or workplace intervention or both? A randomized controlled trial. **Spine**, v. 32, n. 3, p. 291-8; discussion 299-300, Feb 1 2007. ISSN 1528-1159. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=17268258>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:17268258&id=doi:&issn=0362-2436&isbn=&volume=32&issue=3&spage=291&pages=291-8%3B+discussion+299-300&date=2007&title=Spine&atitle=Multidisciplinary+rehabilitation+for+subacute+low+back+pain%3A+graded+activity+or+workplace+intervention+or+both%3F+A+randomized+controlled+trial.&aulast=Anema>>.

ANSON, C. A.; SHEPHERD, C. Incidence of secondary complications in spinal cord injury. **Int J Rehabil Res**, v. 19, n. 1, p. 55-66, Mar 1996. ISSN 0342-5282 (Print)

0342-5282.

ARVIDSON, N. G. et al. Circadian rhythm of serum interleukin-6 in rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis**, v. 53, n. 8, p. 521-4, Aug 1994. ISSN 0003-4967 (Print)

0003-4967. Disponível em: <<http://ard.bmj.com/content/53/8/521.full.pdf>>.

ATTIA, M.; ENGEL, P. Thermoregulatory set point in patients with spinal cord injuries (spinal man). **Paraplegia**, v. 21, n. 4, p. 233-48, Aug 1983. ISSN 0031-1758.

AZIZ, F. et al. Re: Cardiorespiratory, metabolic, and biomechanical responses during functional electrical stimulation leg exercise: health and fitness benefits.[comment]. **Artificial Organs**, v. 33, n. 4, p. 387, Apr 2009.

BAASTRUP, C. et al. 'Inhibition of IL-6 signaling: a novel therapeutic approach to treating spinal cord injury pain' by Guptarak et al. **Pain**, v. 155, n. 1, p. 197-8, Jan 2014. ISSN 0304-3959.

BACH, C. A. et al. Quality of life in quadriplegic adults: a focus group study. **Rehabilitation Nursing**, v. 18, n. 6, p. 364-7, 1993 Nov-Dec ISSN 0278-4807.

BAGULEY, I. J.; BAGULEY, I. J. Autonomic complications following central nervous system injury. **Seminars in Neurology**, v. 28, n. 5, p. 716-25, Nov 2008. ISSN 0271-8235.

BALL, D. Metabolic and endocrine response to exercise: sympathoadrenal integration with skeletal muscle. **J Endocrinol**, v. 224, n. 2, p. R79-95, Feb 2015. ISSN 0022-0795. Disponível em: <<http://joe.endocrinology-journals.org/content/224/2/R79.full.pdf>>.

BAMPI, L. N. D. S.; GUILHEM, D.; LIMA, D. D. Qualidade de vida em pessoas com lesão medular traumática: um estudo com o WHOQOL-bref. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, p. 67-77, 2008. ISSN 1415-790X. Disponível em: <http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2008000100006&nrm=iso>.

BARROS FILHO, T. E. et al. [Epidemiological study of patients with spinal cord injuries and neurologic deficit, admitted to the Institute of Orthopedics and Traumatology at the Hospital das Clinicas of the School of Medicine of the University of Sao Paulo]. **Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo**, v. 45, n. 3, p. 123-6, May-Jun 1990. ISSN 0041-8781 (Print)

0041-8781.

BASSETT, R. L.; MARTIN GINIS, K. A. More than looking good: impact on quality of life moderates the relationship between functional body image and physical activity in men with SCI. **Spinal Cord**, v. 47, n. 3, p. 252-6, Mar 2009. ISSN 1362-4393.

BASTOS, D. H.; ROGERO, M. M.; AREAS, J. A. [Effects of dietary bioactive compounds on obesity induced inflammation]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 53, n. 5, p. 646-56, Jul 2009. ISSN 0004-2730. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v53n5/17.pdf>>.

BATSIU, S. et al. Exercise and individuals with spinal cord injury. **Inquiries in Sport & Physical Education**, v. 6, n. 1, p. 56-66, 2008. ISSN 1790-3041. Disponível em: <<Go to ISI>://CABI:20083325155 >.

BAUMAN WA; MORRISON NG; AM., S. Vitamin D replacement therapy in persons with spinal cord injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 28, n. 3, p. 203-7, 2005.

BAUMAN, W. A.; SPUNGEN, A. M. Disorders of Carbohydrate and Lipid-Metabolism in Veterans with Paraplegia or Quadriplegia - a Model of Premature Aging. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 43, n. 6, p. 749-756, Jun 1994. ISSN 0026-0495. Disponível em: <<Go to ISI>://A1994NQ11900015 >.

_____. Metabolic changes in persons after spinal cord injury. **Physical medicine and rehabilitation clinics of North America**, v. 11, n. 1, p. 109-40, Feb 2000. ISSN 1047-9651 (Print)

1047-9651 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10680161>>.

_____. Body composition changes and anabolic hormone considerations with advancing age and in persons with spinal cord injury. **Wounds-a Compendium of Clinical Research and Practice**, v. 13, n. 4, p. 22D-31D, 2001a. ISSN 1044-7946. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000170687800003 >.

_____. Carbohydrate and lipid metabolism in chronic spinal cord injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 24, n. 4, p. 266-77, 2001b. ISSN 1079-0268. Disponível em: <<Go to ISI>://MEDLINE:11944785 >.

_____. Coronary heart disease in individuals with spinal cord injury: assessment of risk factors. **Spinal Cord**, v. 46, n. 7, p. 466-476, Jul 2008. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://000257325200002 >.

BAUMAN, W. A. et al. The relationship between energy expenditure and lean tissue in monozygotic twins discordant for spinal cord injury. **Journal of Rehabilitation Research and Development**, v. 41, n. 1, p. 1-8, 2004. ISSN 0748-7711. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000220399000003 >.

BAYS, H.; MANDARINO, L.; DEFRONZO, R. A. Role of the adipocyte, free fatty acids, and ectopic fat in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: Peroxisomal proliferator-activated receptor agonists provide a rational therapeutic approach. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 2, p. 463-478, 2004. ISSN 0021-972X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000188763900003 >.

BAYS, H. et al. Adiposopathy: treating pathogenic adipose tissue to reduce cardiovascular disease risk. **Curr Treat Options Cardiovasc Med**, v. 9, n. 4, p. 259-71, 2007. Disponível em: <<Go to ISI>://MEDLINE:17761111 >.

BAYS, H. E. "Sick Fat," Metabolic Disease, and Atherosclerosis. **American Journal of Medicine**, v. 122, n. 1, p. S26-S37, 2009. ISSN 0002-9343. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000261986800004 >.

BELLUCCI, C. H. et al. Contemporary trends in the epidemiology of traumatic spinal cord injury: changes in age and etiology. **Neuroepidemiology**, v. 44, n. 2, p. 85-90, 2015. ISSN 0251-5350.

BERGMARK, B. A.; WINOGRAD, C. H.; KOOPMAN, C. Residence and quality of life determinants for adults with tetraplegia of traumatic spinal cord injury etiology. **Spinal Cord**, v. 46, n. 10, p. 684-9, Oct 2008. ISSN 1362-4393.

BERNARDI, M. et al. Force generation performance and motor unit recruitment strategy in muscles of contralateral limbs. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 9, n. 2, p. 121-30, Apr 1999. ISSN 1050-6411 (Print)

1050-6411.

BERNARDI, M. et al. Motor unit recruitment strategy changes with skill acquisition. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 74, n. 1-2, p. 52-9, 1996. ISSN 0301-5548 (Print)

0301-5548.

BIERING-SORENSEN F; BOHR HH; OP., S. Longitudinal study of bone mineral content in the lumbar spine, the forearm and the lower extremities after spinal cord injury. **Eur J Clin Invest**, v. 20, p. 330-335, 1990.

BINDER, M. C. et al. Does orderly recruitment of motoneurons depend on the existence of different types of motor units? **Neuroscience Letters**, v. 36, n. 1, p. 55-8, Mar 28 1983. ISSN 0304-3940. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med2&AN=6856203>>.

BJERKEFORS, A.; JANSSON, A.; THORSTENSSON, A. Shoulder muscle strength in paraplegics before and after kayak ergometer training. **Eur J Appl Physiol**, v. 97, n. 5, p. 613-8, Jul 2006. ISSN 1439-6319 (Print)

1439-6319. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00421-006-0231-8>>.

BOUTZIOS, G.; KALTSAS, G. Immune System Effects on the Endocrine System. In: DE GROOT, L. J.; BECK-PECCOZ, P., et al (Ed.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000.

BRITO, C. M. M. et al. Densidade mineral óssea após lesão medular. Bone mineral status after spinal cord injury. **Acta Fisiátrica**, v. 9, n. 3, p. 127-133, 2002.

BRITO, W. F. et al. Physical activity levels in public school teachers. **Rev Saude Publica**, v. 46, n. 1, p. 104-9, Feb 2012. ISSN 0034-8910.

BRUUNSGAARD, H. Effects of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in elderly populations. **Eur Cytokine Netw**, v. 13, n. 4, p. 389-91, Oct-Dec 2002. ISSN 1148-5493 (Print) 1148-5493.

BUCHALLA, C. M. **CIF: Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde**. Centro Colaborador da saúde para a Família de Classificações Internacionais: EDUSP, 2003.

BUCHANAN, T. S.; ROVAI, G. P.; RYMER, W. Z. Strategies for muscle activation during isometric torque generation at the human elbow. **J Neurophysiol**, v. 62, n. 6, p. 1201-12, Dec 1989. ISSN 0022-3077 (Print)

0022-3077. Disponível em: <<http://jn.physiology.org/content/62/6/1201.long>>.

BUCHHOLZ, A. C.; BUGARESTI, J. M. A review of body mass index and waist circumference as markers of obesity and coronary heart disease risk in persons with chronic spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 43, n. 9, p. 513-8, Sep 2005. ISSN 1362-4393.

BUCHHOLZ, A. C.; MCGILLIVRAY, C. F.; PENCHARZ, P. B. Physical activity levels are low in free-living adults with chronic paraplegia. **Obesity Research**, v. 11, n. 4, p. 563-570, Apr 2003a. ISSN 1071-7323. Disponível em: <<Go to ISI>://000182195600012 >.

_____. The use of bioelectric impedance analysis to measure fluid compartments in subjects with chronic paraplegia. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 84, n. 6, p. 854-861, 2003b. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000183337000012 >.

BURNHAM, R. et al. Skeletal muscle fibre type transformation following spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 35, n. 2, p. 86-91, Feb 1997. ISSN 1362-4393.

CALANCIE, B. et al. Interlimb reflexes and synaptic plasticity become evident months after human spinal cord injury. **Brain**, v. 125, n. Pt 5, p. 1150-61, May 2002. ISSN 0006-8950.

CALDER, P. C. Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v. 39, n. 1 Suppl, p. 18s-32s, Sep 2015. ISSN 0148-6071 (Print) 0148-6071.

CALDWELL, G. E.; VAN LEEMPUTTE, M. Elbow torques and EMG patterns of flexor muscles during different isometric tasks. **Electromyogr Clin Neurophysiol**, v. 31, n. 7, p. 433-45, Oct-Nov 1991. ISSN 0301-150X (Print)

0301-150x.

CAMPAGNOLO, D. I.; BARTLETT, J. A.; KELLER, S. E. Influence of neurological level on immune function following spinal cord injury: a review. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 23, n. 2, p. 121-8, 2000. ISSN 1079-0268.

CAMPAGNOLO, D. I. et al. Altered innate immunity following spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 46, n. 7, p. 477-81, Jul 2008. ISSN 1362-4393.

CAMPOS, M. F. D. et al. Epidemiologia do traumatismo da coluna vertebral. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, p. 88-93, 2008. ISSN 0100-6991. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912008000200005&nrm=iso.

CANUPP, K. C. et al. Predicting compliance with annual follow-up evaluations in persons with spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 35, n. 5, p. 314-9, May 1997. ISSN 1362-4393.

CAO Y; CHEN Y; DEVIVO M J. Lifetime Direct Costs After Spinal Cord Injury. **Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation** v. 16, n. 4, 2011.

CAO, Z. et al. Regulation of tumor necrosis factor- and fas-mediated apoptotic cell death a novel cDNA. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 227, p. 266-72, 1996.

CARDENAS, D. D. et al. Gender and minority differences in the pain experience of people with spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 85, n. 11, p. 1774-81, Nov 2004. ISSN 0003-9993.

CARDENAS, D. D. et al. Etiology and incidence of rehospitalization after traumatic spinal cord injury: a multicenter analysis. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 85, n. 11, p. 1757-63, Nov 2004. ISSN 0003-9993.

CARTER, R. E., JR. Etiology of traumatic spinal cord injury: statistics of more than 1,100 cases. **Texas Medicine**, v. 73, n. 6, p. 61-5, Jun 1977. ISSN 0040-4470.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Rep**, v. 100, n. 2, p. 126-31, Mar-Apr 1985. ISSN 0033-3549 (Print)

0033-3549.

Disponível

em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1424733/pdf/pubhealthrep00100-0016.pdf>>.

CASTRO, M. J. et al. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle cross-sectional area within the first 6 months of injury. **European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology**, v. 80, n. 4, p. 373-8, Sep 1999. ISSN 0301-5548.

CASTRO, M. J. et al. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle mechanics within the first 6 months of injury. **European Journal of Applied Physiology**, v. 81, n. 1-2, p. 128-31, Jan 2000. ISSN 1439-6319.

CENTER, N. S. C. I. S. **Spinal Cord Injury Facts and Figures at a Glance**. The University of Alabama at Birmingham. Birmingham. 2012

CHAMBERLAIN, J. D. et al. Mortality and longevity after a spinal cord injury: systematic review and meta-analysis. **Neuroepidemiology**, v. 44, n. 3, p. 182-98, 2015. ISSN 0251-5350. Disponível em: <<http://www.karger.com/Article/Pdf/382079>>.

CHARLES, E. D. et al. The costs of spinal cord injury. **Paraplegia**, v. 15, n. 4, p. 302-10, Feb 1978. ISSN 0031-1758.

CHEN, Y. et al. Obesity intervention in persons with spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 44, n. 2, p. 82-91, 2006. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000235068600003 >.

CIEZA, A. et al. ICF Core Sets for individuals with spinal cord injury in the long-term context. **Spinal Cord**, v. 48, n. 4, p. 305-12, Apr 2010. ISSN 1476-5624. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=20065984>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:20065984&id=doi&issn=1362-4393&isbn=&volume=48&issue=4&spage=305&pages=305-12&date=2010&title=Spinal+Cord&atitle=ICF+Core+Sets+for+individuals+with+spinal+cord+injury+in+the+long-term+context.&aulast=Cieza>>.

COBB, J. et al. An Exploratory Analysis of the Potential Association Between SCI Secondary Health Conditions and Daily Activities. **Top Spinal Cord Inj Rehabil**, v. 20, n. 4, p. 277-88, Fall 2014. ISSN 1082-0744 (Print)

1082-0744. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4252128/pdf/sci-20-277.pdf>>.

COHEN, M. E. et al. A test of the 1992 International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury. **Spinal Cord**, v. 36, n. 8, p. 554-560, 1998. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000075136200004 >.

CONN, V. S.; HAFDAHL, A. R.; BROWN, L. M. Meta-analysis of quality-of-life outcomes from physical activity interventions. **Nurs Res**, v. 58, n. 3, p. 175-83, May-Jun 2009. ISSN 0029-6562. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3159686/pdf/nihms317310.pdf>>.

COWAN, R. E.; MALONE, L. A.; NASH, M. S. Exercise is Medicine: Exercise prescription after SCI to manage cardiovascular disease risk factors. **Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation**, v. 14, n. 3, p. 69-83, 2009.

COWAN, R. E.; NASH, M. S. Cardiovascular disease, SCI and exercise: unique risks and focused countermeasures. **Disability and Rehabilitation**, v. 32, n. 26, p. 2228-2236, 2010. ISSN 0963-8288. Disponível em: <<Go to ISI>://000284632800010 >.

CRAMERI, R. M. et al. Effects of electrical stimulation leg training during the acute phase of spinal cord injury: a pilot study. **European Journal of Applied Physiology**, v. 83, n. 4-5, p. 409-415, Nov 2000. ISSN 1439-6319. Disponível em: <<Go to ISI>://000165444200024 >.

CURI, R. **Fisiologia Básica / Rui Curi, Joaquim Procopio de Araújo Filho**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. ISBN 978-85-277-1559-1.

CURI, R. et al. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. São Paulo: Manole, 2002.

DALYAN, M.; CARDENAS, D. D.; GERARD, B. Upper extremity pain after spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 37, n. 3, p. 191-5, Mar 1999. ISSN 1362-4393 (Print)

1362-4393.

DE BRUIN ED et al. Longitudinal changes in bone in men with spinal cord injury. . **Clin Rehabil** v. 14, p. 145-152, 2000.

DE BRUIN ED et al. Changes of tibia bone properties after spinal cord injury: effects of early intervention. **Arch Phys Med Rehabilitation**, v. 80, p. 214-220, 1999.

DE GROOT, S. et al. The longitudinal relationship between lipid profile and physical capacity in persons with a recent spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 46, n. 5, p. 344-351, May 2008. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://000255502600006 >.

DE JAGER, W. et al. Prerequisites for cytokine measurements in clinical trials with multiplex immunoassays. **BMC Immunol**, v. 10, p. 52, 2009. ISSN 1471-2172. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2761376/pdf/1471-2172-10-52.pdf>>.

DE PABLO, M. A.; ANGELES PUERTOLLANO, M.; ALVAREZ DE CIENFUEGOS, G. Immune cell functions, lipids and host natural resistance. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 29, n. 4, p. 323-8, Dec 2000. ISSN 0928-8244. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=11118914>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:11118914&id=doi&issn=0928-8244&isbn=&volume=29&issue=4&spage=323&pages=323-8&date=2000&title=FEMS+Immunology+%26+Medical+Microbiology&atitle=Immune+cell+functions%2C+lipids+and+host+natural+resistance.&aulast=de+Pablo>>.

DEDEIC-LJUBOVIC, A. et al. Catheter-related urinary tract infection in patients suffering from spinal cord injuries. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 9, n. 1, p. 2-9, Feb 2009. ISSN 1512-8601.

DEROON-CASSINI, T. A. et al. Psychological well-being after spinal cord injury: perception of loss and meaning making. **Rehabilitation Psychology**, v. 54, n. 3, p. 306-14, Aug 2009. ISSN 0090-5550.

DESCHENES, M. R. et al. The effects of exercise training of different intensities on neuromuscular junction morphology. **Journal of Neurocytology**, v. 22, n. 8, p. 603-15, Aug 1993. ISSN 0300-4864.

DEVIVO M J et al. Costs of Care Following Spinal Cord Injury. **Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation** v. 16, n. 4, p. 1-9, 2011.

DEVIVO, M. J.; KRAUSE, J. S.; LAMMERTSE, D. P. Recent trends in mortality and causes of death among persons with spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 80, n. 11, p. 1411-9, Nov 1999. ISSN 0003-9993.

DINARELLO, C. A. Grand challenge in inflammation. **Front Immunol**, v. 3, p. 12, 2012. ISSN 1664-3224. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3341958/pdf/fimmu-03-00012.pdf>>.

DITUNNO, J. F., JR. et al. The international standards booklet for neurological and functional classification of spinal cord injury. American Spinal Injury Association. **Paraplegia**, v. 32, n. 2, p. 70-80, Feb 1994. ISSN 0031-1758.

DOLBOW, D. R.; GORGEY, A. S. Effects of Use and Disuse on Non-paralyzed and Paralyzed Skeletal Muscles. **Aging Dis**, v. 7, n. 1, p. 68-80, Jan 2016. ISSN 2152-5250.

DONNELLY, J. E. et al. Appropriate Physical Activity Intervention Strategies for Weight Loss and Prevention of Weight Regain for Adults. **MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE**, p. 459-471, 2009.

DUDLEY, G. A. et al. A simple means of increasing muscle size after spinal cord injury: a pilot study. **European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology**, v. 80, n. 4, p. 394-6, Sep 1999. ISSN 0301-5548.

DUDLEY-JAVOROSKI, S. et al. Assessment of physical function and secondary complications after complete spinal cord injury. **Disability & Rehabilitation**, v. 28, n. 2, p. 103-10, Jan 30 2006. ISSN 0963-8288.

DYALL, S. C.; MICHAEL-TITUS, A. T. Neurological benefits of omega-3 fatty acids. **Neuromolecular Med**, v. 10, n. 4, p. 219-35, 2008a. ISSN 1535-1084. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12017-008-8036-z>>.

_____. Neurological benefits of omega-3 fatty acids. **NeuroMolecular Medicine**, v. 10, n. 4, p. 219-35, 2008b. ISSN 1559-1174. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=18543124>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:18543124&id=doi:&issn=1535-1084&isbn=&volume=10&issue=4&spage=219&pages=219-35&date=2008&title=NeuroMolecular+Medicine&atitle=Neurological+benefits+of+omega-3+fatty+acids.&aulast=Dyall>>.

EDWARDS, L. A.; BUGARESTI, J. M.; BUCHHOLZ, A. C. Visceral adipose tissue and the ratio of visceral to subcutaneous adipose tissue are greater in adults with than in those without spinal cord injury, despite matching waist circumferences. **Am J Clin Nutr**, v. 87, n. 3, p. 600-7, 2008. ISSN 0002-9165. Disponível em: <<Go to ISI>://MEDLINE:18326597 >.

ELDER, C. P. et al. Intramuscular fat and glucose tolerance after spinal cord injury - a cross-sectional study. **Spinal Cord**, v. 42, n. 12, p. 711-716, 2004. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000225482500007 >.

ESER P et al. Relationship between the duration of paralysis and bone structure: a pQCT study of spinal cord injured individuals. . **Bone**, v. 34, p. 869-80, 2004.

ESPINOLA-KLEIN, C. et al. Inflammatory markers and cardiovascular risk in the metabolic syndrome. **Front Biosci (Landmark Ed)**, v. 16, p. 1663-74, 2011. ISSN 1093-4715.

EXPERT COMMITTEE ON PHYSICAL STATUS, W. **The use and Interpretation of Anthropometry Physical status**. Geneva. 2004. (0512-3054)

FARINA, D. et al. Effect of experimental muscle pain on motor unit firing rate and conduction velocity. **J Neurophysiol**, v. 91, n. 3, p. 1250-9, Mar 2004. ISSN 0022-3077 (Print)

0022-3077. Disponível em: <<http://jn.physiology.org/content/jn/91/3/1250.full.pdf>>.

FARINA, D.; CESCO, C.; MERLETTI, R. Influence of anatomical, physical, and detection-system parameters on surface EMG. **Biol Cybern**, v. 86, n. 6, p. 445-56, Jun 2002. ISSN 0340-1200 (Print)

0340-1200. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00422-002-0309-2>>.

FARINA, D.; FOSCI, M.; MERLETTI, R. Motor unit recruitment strategies investigated by surface EMG variables. **J Appl Physiol (1985)**, v. 92, n. 1, p. 235-47, Jan 2002. ISSN 8750-7587 (Print)

0161-7567. Disponível em: <<http://jap.physiology.org/content/jap/92/1/235.full.pdf>>.

FARINA, D. et al. Decoding the neural drive to muscles from the surface electromyogram. **Clin Neurophysiol**, v. 121, n. 10, p. 1616-23, Oct 2010. ISSN 1388-2457. Disponível em: <[http://www.clinph-journal.com/article/S1388-2457\(10\)00345-7/abstract](http://www.clinph-journal.com/article/S1388-2457(10)00345-7/abstract)>.

FARINA, D.; MERLETTI, R.; ENOKA, R. M. The extraction of neural strategies from the surface EMG. **J Appl Physiol** (1985), v. 96, n. 4, p. 1486-95, Apr 2004. ISSN 8750-7587 (Print)

0161-7567. Disponível em: <<http://jap.physiology.org/content/jap/96/4/1486.full.pdf>>.

FLORINDO, A. A. et al. Practice of physical activities and associated factors in adults, Brazil, 2006. **Rev Saude Publica**, v. 43 Suppl 2, p. 65-73, Nov 2009. ISSN 0034-8910.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. [The adipose tissue as a regulatory center of the metabolism]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 2, p. 216-29, Apr 2006. ISSN 0004-2730 (Print)

0004-2730. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v50n2/29305.pdf>>.

FRANÇA I S et al. Qualidade de vida de adultos com lesão medular: um estudo com WHOQOL-bref. **Revista da Escola de Enfermagem USP**

, v. 45, n. 6, p. 1364-71, 2011.

FRANKENFIELD, D. Energy expenditure and protein requirements after traumatic injury. **Nutr Clin Pract**, v. 21, n. 5, p. 430-7, Oct 2006. ISSN 0884-5336 (Print)

0884-5336.

FREY-RINDOVA P et al. Bone mineral density in upper and lower extremities during 12 months after spinal cord injury measured by peripheral quantitative computed tomography. . **Spinal Cord**, v. 38, p. 26-32, 2000.

FURLAN, J. C. et al. Cardiovascular complications after acute spinal cord injury: pathophysiology, diagnosis, and management. **Neurosurgical Focus**, v. 25, n. 5, p. E13, 2008.

GARBER, C. E. et al. Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults: Guidance for Prescribing Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 7, p. 1334-1359, 2011. ISSN 0195-9131. Disponível em: <http://journals.lww.com/acsm-msse/Fulltext/2011/07000/Quantity_and_Quality_of_Exercise_for_Developing.26.aspx>.

GARSHICK E; KELLEY A; COHEN SA, E. A. A prospective assessment of mortality in chronic spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 43, n. 7, p. 408-16, July 2005.

GARSTANG, S. V. et al. Autonomic nervous system dysfunction after spinal cord injury. **Physical Medicine & Rehabilitation Clinics of North America**, v. 18, n. 2, p. 275-96, 2007 May ISSN 1047-9651.

GILLISON, F. B. et al. The effects of exercise interventions on quality of life in clinical and healthy populations; a meta-analysis. **Soc Sci Med**, v. 68, n. 9, p. 1700-10, May 2009. ISSN 0277-9536. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277953609001063>>.

GINIS, K. et al. Development and Evaluation of an Activity Measure for People with Spinal Cord Injury. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 37, n. 7, p. 1099-1111, 2005. ISSN 0195-9131. Disponível em: <http://journals.lww.com/acsm-msse/Fulltext/2005/07000/Development_and_Evaluation_of_an_Activity_Measure.4.aspx>.

GINIS, K. A. M. et al. Development and Assessment of an Activity Measure for People with Spinal Cord Injury. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 37, p. 1099-1111, 2005.

GINIS, K. A. M. et al. Establishing evidence-based physical activity guidelines: methods for the Study of Health and Activity in People with Spinal Cord Injury (SHAPE SCI). **Spinal Cord**, v. 46, n. 3, p. 216-221, 2008. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000253815900009>.

GINIS, K. A. M. et al. Reliability and Validity Tests of the Leisure Time Physical Activity Questionnaire for People With Spinal Cord Injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 93, n. 4, p. 677-682, 2012. ISSN 0003-9993. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003999311009579>>.

GITTLER, M. S. et al. Spinal cord injury medicine. 3. Rehabilitation outcomes. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 83, n. 3, p. S65-S71, 2002. ISSN 0003-9993. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000174347200016>.

GOMES, F. et al. [Obesity and coronary artery disease: role of vascular inflammation]. **Arq Bras Cardiol**, v. 94, n. 2, p. 255-61, 273-9, 260-6, Feb 2010. ISSN 0066-782x.

GONDIM, F. A. et al. Cardiovascular control after spinal cord injury. **Current Vascular Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 71-9, Jan 2004. ISSN 1570-1611.

GORDON, T.; MAO, J. Muscle atrophy and procedures for training after spinal cord injury. **Physical Therapy**, v. 74, n. 1, p. 50-60, Jan 1994. ISSN 0031-9023.

GORGEY, A. S.; DUDLEY, G. A. Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 45, n. 4, p. 304-9, Apr 2007. ISSN 1362-4393.

GORLA, J. I. et al. Impact of Wheelchair Rugby on Body Composition of Subjects With Tetraplegia: A Pilot Study. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 97, n. 1, p. 92-6, Jan 2016. ISSN 0003-9993. Disponível em: <[http://www.archives-pmr.org/article/S0003-9993\(15\)01197-1/pdf](http://www.archives-pmr.org/article/S0003-9993(15)01197-1/pdf)>.

GRIMBY, G. et al. Muscle fiber composition in patients with traumatic cord lesion. **Scandinavian Journal of Rehabilitation Medicine**, v. 8, n. 1, p. 37-42, 1976. ISSN 0036-5505.

GROAH, S. L. et al. Spinal Cord Injury and Aging Challenges and Recommendations for Future Research. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 91, n. 1, p. 80-93, Jan 2012. ISSN 0894-9115. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000298147200010 >.

GROAH, S. L. et al. Nutrient intake and body habitus after spinal cord injury: an analysis by sex and level of injury. **J Spinal Cord Med**, v. 32, n. 1, p. 25-33, 2009. ISSN 1079-0268 (Print)

1079-0268. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2647496/pdf/i1079-0268-32-1-25.pdf>>.

GUPTA, A. et al. Non-traumatic spinal cord lesions: epidemiology, complications, neurological and functional outcome of rehabilitation. **Spinal Cord**, v. 47, n. 4, p. 307-11, Apr 2009. ISSN 1362-4393.

GUPTA, N.; WHITE, K. T.; SANDFORD, P. R. Body mass index in spinal cord injury -- a retrospective study. **Spinal Cord**, v. 44, n. 2, p. 92-4, Feb 2006. ISSN 1362-4393 (Print)

1362-4393.

GUTIERREZ, E. M. et al. Measuring seating pressure, area, and asymmetry in persons with spinal cord injury. **Eur Spine J**, v. 13, n. 4, p. 374-9, Jul 2004. ISSN 0940-6719 (Print)

0940-6719. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3468044/pdf/586_2003_Article_635.pdf>.

HAMER, M.; STAMATAKIS, E. Physical Activity and Risk of Cardiovascular Disease Events: Inflammatory and Metabolic Mechanisms. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 6, p. 1206-1211, 2009. ISSN 0195-9131. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000266398000007 >.

HARVEY, L., Ed. **Management of spinal cord injuries : a guide for physiotherapists** New York: Edinburgh Butterworth-Heinemanned. 2008.

HARVEY, L., Ed. **Management of spinal cord injuries : a guide for physiotherapists**. New York: Edinburgh Butterworth-Heinemanned. 2008.

HARVEY, L. A. et al. Clinicians' and patients' impressions of change in motor performance as potential outcome measures for clinical trials. **Spinal Cord**, v. 49, n. 1, p. 30-35, Jan 2011. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000285996800005 >.

HASKELL, W. L. et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 8, p. 1423-34, Aug 2007. ISSN 0195-9131 (Print)

0195-9131.

HASANAN, N. et al. Exercise responses during functional electrical stimulation cycling in individuals with spinal cord injury. **Med Sci Sports Exerc**, v. 45, n. 6, p. 1131-8, Jun 2013. ISSN 0195-9131.

HENNEMAN, E.; SOMJEN, G.; CARPENTER, D. O. Excitability and inhibitability of motoneurons of different sizes. **Journal of Neurophysiology**, v. 28, n. 3, p. 599-620, May 1965. ISSN 0022-3077. Disponível em: <http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med1&AN=5835487>.

HERRMANN, K. H. et al. The comprehensive ICF core sets for spinal cord injury from the perspective of physical therapists: a worldwide validation study using the Delphi technique.[Erratum appears in Spinal Cord. 2011 May;49(5):676]. **Spinal Cord**, v. 49, n. 4, p. 502-14, Apr 2011. ISSN 1476-5624. Disponível em: <http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med1&AN=21102571>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:21102571&id=doi:&issn=1362-4393&isbn=&volume=49&issue=4&spage=502&pages=502-14&date=2011&title=Spinal+Cord&atitle=The+comprehensive+ICF+core+sets+for+spinal+cord+injury+from+the+perspective+of+physical+therapists%3A+a+worldwide+validation+study+using+the+Delphi+technique.&aulast=Herrmann>.

HETZ, S. P. et al. Secondary complications and subjective well-being in individuals with chronic spinal cord injury: associations with self-reported adiposity. **Spinal Cord**, v. 49, n. 2, p. 266-72, Feb 2011. ISSN 1362-4393. Disponível em: <http://www.nature.com/sc/journal/v49/n2/pdf/sc2010100a.pdf>.

HETZ, S. P.; LATIMER, A. E.; GINIS, K. A. M. Activities of daily living performed by individuals with SCI: relationships with physical fitness and leisure time physical activity. **Spinal Cord**, England, v. 47, n. 7, p. 550-554, 2009. ISSN 1476-5624. Disponível em: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=19104510&lang=pt-br&site=ehost-live>.

HORN, W. et al. Determinants of self-efficacy among persons with spinal cord injuries. **Disability & Rehabilitation**, v. 20, n. 4, p. 138-41, Apr 1998. ISSN 0963-8288.

HUANG, W. L. et al. A combination of intravenous and dietary docosahexaenoic acid significantly improves outcome after spinal cord injury. **Brain**, v. 130, n. Pt 11, p. 3004-19, Nov 2007. ISSN 1460-2156. Disponível em: <http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=17901087>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:17901087&id=doi:&issn=0006-8950&isbn=&volume=130&issue=11&spage=3004&pages=3004-19&date=2007&title=Brain&atitle=A+combination+of+intravenous+and+dietary+docosahexaenoic+acid+significantly+improves+outcome+after+spinal+cord+injury.&aulast=Huang>.

HUNTER, G. R. et al. Resistance training and intra-abdominal adipose tissue in older men and women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 34, n. 6, p. 1023-1028, 2002. ISSN 0195-9131. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000176083100019 >.

HUNTER, S. K. et al. Activation among the elbow flexor muscles differs when maintaining arm position during a fatiguing contraction. **J Appl Physiol** (1985), v. 94, n. 6, p. 2439-47, Jun 2003. ISSN 8750-7587 (Print)

0161-7567. Disponível em: <<http://jap.physiology.org/content/jap/94/6/2439.full.pdf>>.

HUO, Z. J.; DIE, J.; XU, J. M. [Influence of electroacupuncture on spinal TNF-alpha and IL-6 contents in spinal cord ischemia-reperfusion injury rabbits]. **Zhen Ci Yan Jiu**, v. 37, n. 4, p. 308-11, Aug 2012. ISSN 1000-0607 (Print)

1000-0607.

INUKAI, Y. et al. Assessment of total and segmental body composition in spinal cord-injured athletes in Okayama Prefecture of Japan. **Acta Medica Okayama**, v. 60, n. 2, p. 99-106, 2006. ISSN 0386-300X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000237001900005 >.

JACKMAN, R. P. et al. Effects of blood sample age at time of separation on measured cytokine concentrations in human plasma. **Clin Vaccine Immunol**, v. 18, n. 2, p. 318-26, Feb 2011. ISSN 1556-679x. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3067358/pdf/0465-10.pdf>>.

JACOBS, P. L. et al. Exercise recommendations for individuals with spinal cord injury. **Sports Medicine**, v. 34, n. 11, p. 727-51, 2004. ISSN 0112-1642.

JAVIDAN, A. N. et al. Is the pattern of dietary amino acids intake associated with serum lipid profile and blood pressure among individuals with spinal cord injury? **J Spinal Cord Med**, Dec 18 2015. ISSN 1079-0268.

JAVIERRE, C. et al. The effect of supplementation with n-3 fatty acids on the physical performance in subjects with spinal cord injury. **Journal of Physiology & Biochemistry**, v. 62, n. 4, p. 271-9, Dec 2006. ISSN 1138-7548. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=17615953>
<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:17615953&id=doi&issn=1138-7548&isbn=&volume=62&issue=4&spage=271&pages=271-9&date=2006&title=Journal+of+Physiology+%26+Biochemistry&atitle=The+effect+of+supplementation+with+n-3+fatty+acids+on+the+physical+performance+in+subjects+with+spinal+cord+injury.&aulast=Javierre>>.

JAVIERRE, C. et al. The effect of supplementation with n-3 fatty acids on the physical performance in subjects with spinal cord injury. **Journal of Physiology & Biochemistry**, v. 62, n. 4, p. 271-9, Dec 2006. ISSN 1138-7548.

JAVIERRE, C. et al. Continual supplementation with n-3 fatty acids does not modify plasma lipid profile in spinal cord injury patients. **Spinal Cord**, v. 43, n. 9, p. 527-30, Sep 2005. ISSN 1362-4393. Disponível em:

<<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=15838525>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:15838525&id=doi&issn=1362-4393&isbn=&volume=43&issue=9&spage=527&pages=527-30&date=2005&title=Spinal+Cord&atitle=Continual+supplementation+with+n-3+fatty+acids+does+not+modify+plasma+lipid+profile+in+spinal+cord+injury+patients.&aulast=Javierre>>.

JETHA, A. et al. Physical activity and individuals with spinal cord injury: accuracy and quality of information on the Internet. **Disabil Health J**, v. 4, n. 2, p. 112-20, Apr 2011. ISSN 1936-6574 (Print). Disponível em: <[http://www.disabilityandhealthjnl.com/article/S1936-6574\(10\)00060-9/abstract](http://www.disabilityandhealthjnl.com/article/S1936-6574(10)00060-9/abstract)>.

JOHNSON RL; BROOKS CA; WHITENECK GG. Cost of traumatic spinal cord injury in a population-based registry. **Spinal Cord**, v. 34, p. 470-80, 1996.

JONES, L. M.; LEGGE, M.; GOULDING, A. Healthy body mass index values often underestimate body fat in men with spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 84, n. 7, p. 1068-1071, 2003. ISSN 0003-9993. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000184065000023 >.

KALLENBERG, L. A.; HERMENS, H. J. Behaviour of motor unit action potential rate, estimated from surface EMG, as a measure of muscle activation level. **J Neuroeng Rehabil**, v. 3, p. 15, 2006. ISSN 1743-0003.

KARELIS, A. D. et al. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: What do we know?, 2004, Endocrine Soc. p.2569-2575.

KARLSSON, A. K. Autonomic dysreflexia. **Spinal Cord**, v. 37, n. 6, p. 383-91, Jun 1999. ISSN 1362-4393.

KARLSSON, A. K.; KARLSSON, A.-K. Autonomic dysfunction in spinal cord injury: clinical presentation of symptoms and signs. **Progress in Brain Research**, v. 152, p. 1-8, 2006. ISSN 0079-6123.

KENNEY, M. J.; GANTA, C. K. Autonomic nervous system and immune system interactions. **Compr Physiol**, v. 4, n. 3, p. 1177-200, Jul 2014. ISSN 2040-4603. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4374437/pdf/nihms672160.pdf>>.

KENT-BRAUN, J. A. Noninvasive measures of central and peripheral activation in human muscle fatigue. **Muscle Nerve Suppl**, v. 5, p. S98-101, 1997.

KENT-BRAUN, J. A.; LE BLANC, R. Quantitation of central activation failure during maximal voluntary contractions in humans. **Muscle Nerve**, v. 19, n. 7, p. 861-9, Jul 1996. ISSN 0148-639X (Print)

0148-639x.

KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. 2004, Endocrine Soc. p.2548-2556.

KIM, J. H. **O estigma da deficiência física e o paradigma da reconstrução biocibernética do corpo**. 2013. (Doutorado em Antropologia Social). Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/8/8134/tde-10022014-111556/>.

KING, V. R. et al. Omega-3 fatty acids improve recovery, whereas omega-6 fatty acids worsen outcome, after spinal cord injury in the adult rat. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 17, p. 4672-80, Apr 26 2006. ISSN 1529-2401. Disponível em: <http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=16641248>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:16641248&id=doi:&issn=0270-6474&isbn=&volume=26&issue=17&spage=4672&pages=4672-80&date=2006&title=Journal+of+Neuroscience&atitle=Omega-3+fatty+acids+improve+recovery%2C+whereas+omega-6+fatty+acids+worsen+outcome%2C+after+spinal+cord+injury+in+the+adult+rat.&aulast=King>>.

KIRCHBERGER, I. et al. Identification of the most common problems in functioning of individuals with spinal cord injury using the International Classification of Functioning, Disability and Health. **Spinal Cord**, v. 48, n. 3, p. 221-9, Mar 2010. ISSN 1476-5624. Disponível em: <http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=19752871>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:19752871&id=doi:&issn=1362-4393&isbn=&volume=48&issue=3&spage=221&pages=221-9&date=2010&title=Spinal+Cord&atitle=Identification+of+the+most+common+problems+in+functioning+of+individuals+with+spinal+cord+injury+using+the+International+Classification+of+Functioning%2C+Disability+and+Health.&aulast=Kirchberger>>.

KIRSHBLUM, S. C. et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury (revised 2011). **J Spinal Cord Med**, v. 34, n. 6, p. 535-46, Nov 2011. ISSN 1079-0268 (Print)

1079-0268.

Disponível

em:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3232636/pdf/scm-34-535.pdf>>.

KIRSHBLUM, S. C. et al. Spinal cord injury medicine. 1. Etiology, classification, and acute medical management. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 83, n. 3 Suppl 1, p. S50-7, 2002 Mar ISSN 0003-9993.

KOCH A; GRAELLS X S; ZANINELLI E M. Epidemiologia de fraturas da coluna de acordo com o mecanismo de trauma: análise de 502 casos. Epidemiologic study on vertebral fractures: analysis of 502 cases in accordance with the trauma mechanism. **COLUNA/COLUMNA**, v. 6, n. 1, p. 18-23, 2007.

KOCH, I. [Etiology of traumatic paraplegia]. **Zeitschrift fur Arztliche Fortbildung (Jena)**, v. 70, n. 20, p. 1055-8, Oct 15 1976. ISSN 0044-2178.

KRASSIOUKOV, A. V.; FURLAN, J. C.; FEHLINGS, M. G. Medical co-morbidities, secondary complications, and mortality in elderly with acute spinal cord injury. **J Neurotrauma**, v. 20, n. 4, p. 391-9, Apr 2003. ISSN 0897-7151 (Print)

0897-7151.

KRASSIOUKOV, A. V. et al. Assessment of autonomic dysfunction following spinal cord injury: rationale for additions to International Standards for Neurological Assessment. **Journal of Rehabilitation Research & Development**, v. 44, n. 1, p. 103-12, 2007.

KRAUSE, J. S.; CARTER, R. E.; PICKELSIMER, E. Behavioral risk factors of mortality after spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 90, n. 1, p. 95-101, Jan 2009. ISSN 1532-821X. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=19154835>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:19154835&id=doi&issn=0003-9993&isbn=&volume=90&issue=1&spage=95&pages=95-101&date=2009&title=Archives+of+Physical+Medicine+%26+Rehabilitation&atitle=Behavioral+risk+factors+of+mortality+after+spinal+cord+injury.&aulast=Krause>>.

KRAUSE, J. S. et al. Life satisfaction and self-reported problems after spinal cord injury: measurement of underlying dimensions. **Rehabilitation Psychology**, v. 54, n. 3, p. 343-50, Aug 2009. ISSN 0090-5550.

KRAUSE, J. S.; SAUNDERS, L. L. Health, Secondary Conditions, and Life Expectancy After Spinal Cord Injury. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 92, n. 11, p. 1770-1775, Nov 2011. ISSN 0003-9993. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000296934600005 >.

KRIS-ETHERTON P. M.; HARRIS S.W.; APPEL L. J. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, 2003.

KRUGER MC et al. Calcium, gamma-linolenic acid and eicosapentaenoic acid supplementation in senile osteoporosis. **Aging (Milano)**, v. 10, p. 385-394, 1998.

LA FOUNTAINE, M. F. et al. Lipoprotein heterogeneity in persons with Spinal Cord Injury: a model of prolonged sitting and restricted physical activity. **Lipids Health Dis**, v. 14, p. 81, 2015. ISSN 1476-511x.

LACLAUSTRA, M. et al. Serum lipid profile in subjects with traumatic spinal cord injury. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0115522, 2015. ISSN 1932-6203.

LAMONTE, M.; AINSWORTH, B. Quantifying energy expenditure and physical activity in the context of dose response. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 6, p. 370-378, 2001.

LANDS, B. A critique of paradoxes in current advice on dietary lipids. . **Progress in Lipids Research**, 2008.

LAPORTE, R. E.; MONTROYE, H. J.; CASPERSEN, C. J. Assessment of physical activity in epidemiologic research: problems and prospects. **Public Health Rep**, v. 100, n. 2, p. 131-46, Mar-Apr 1985. ISSN 0033-3549 (Print)

0033-3549. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1424723/pdf/pubhealthrep00100-0021.pdf>>.

LATIMER A et al. The Physical Activity Recall Assessment for People with Spinal Cord Injury: Validity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, p. 208-216, 2006.

LEE, T. Q.; MCMAHON, P. J. Shoulder biomechanics and muscle plasticity: implications in spinal cord injury. **Clin Orthop Relat Res**, n. 403 Suppl, p. S26-36, Oct 2002. ISSN 0009-921X (Print)

0009-921x.

LEHNINGER, A.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2000.

LISSONI, P. et al. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans. **Nat Immun**, v. 16, n. 1, p. 1-5, 1998. ISSN 1018-8916 (Print)

1018-8916.

LU, Y. et al. Lipid mediator informatics and proteomics in inflammation resolution. **ScientificWorldJournal**, v. 6, p. 589-614, 2006. ISSN 1537-744x.

MADEIRA, M. C. et al. [Physical activity during commuting by adults and elderly in Brazil: prevalence and associated factors]. **Cad Saude Publica**, v. 29, n. 1, p. 165-74, Jan 2013. ISSN 0102-311x. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/csp/v29n5/19.pdf>>.

MAIMOUN, L. et al. Bone loss in spinal cord-injured patients: from physiopathology to therapy. **Spinal Cord**, v. 44, n. 4, p. 203-10, Apr 2006. ISSN 1362-4393.

MANGE, K. C. et al. RECOVERY OF STRENGTH AT THE ZONE OF INJURY IN MOTOR COMPLETE AND MOTOR INCOMPLETE CERVICAL SPINAL-CORD INJURED PATIENTS. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 71, n. 8, p. 562-565, 1990. ISSN 0003-9993. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1990DN43400004 >.

MANNS, P. J.; MCCUBBIN, J. A.; WILLIAMS, D. P. Fitness, inflammation, and the metabolic syndrome in men with paraplegia. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 86, n. 6, p. 1176-1181, Jun 2005. ISSN 0003-9993. Disponível em: <<Go to ISI>://000229689500016 >.

MARINO, R. J. et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 26 Suppl 1, p. S50-6, 2003 2003. ISSN 1079-0268. Disponível em: <<Go to ISI>://MEDLINE:16296564 >.

MARINO, R. J. et al. Neurologic recovery after traumatic spinal cord injury: data from the Model Spinal Cord Injury Systems. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 80, n. 11, p. 1391-6, Nov 1999. ISSN 0003-9993.

MARTIN GINIS, K. A. et al. Establishing evidence-based physical activity guidelines: methods for the Study of Health and Activity in People with Spinal Cord Injury (SHAPE SCI). **Spinal Cord**, v. 46, n. 3, p. 216-21, Mar 2008. ISSN 1362-4393.

MARTIN, W. H. et al. Effect of Endurance Training on Plasma-Free Fatty-Acid Turnover and Oxidation During Exercise. **American Journal of Physiology**, v. 265, n. 5, p. E708-E714, Nov 1993. ISSN 0002-9513. Disponível em: <<Go to ISI>://A1993MJ16700036 >.

MARTINSEN, E. W. Physical activity in the prevention and treatment of anxiety and depression. **Nord J Psychiatry**, v. 62 Suppl 47, p. 25-9, 2008. ISSN 0803-9488.

MAUROVICH-HORVAT, P. et al. Relationship of thoracic fat depots with coronary atherosclerosis and circulating inflammatory biomarkers. **Obesity (Silver Spring)**, v. 23, n. 6, p. 1178-84, Jun 2015. ISSN 1930-7381.

MAYNARD, F. M. et al. International standards for neurological and functional classification of spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 35, n. 5, p. 266-274, 1997. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1997WZ80200003 >.

MCCORMICK, Z. L. et al. Feasibility for developing cardiovascular exercise recommendations for persons with motor-complete paraplegia based on manual wheelchair propulsion; A protocol and preliminary data. **J Spinal Cord Med**, Jan 13 2015. ISSN 1079-0268.

MCKINLEY, W. et al. Incidence, etiology, and risk factors for fever following acute spinal cord injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 29, n. 5, p. 501-6, 2006. ISSN 1079-0268.

MCKINLEY, W. et al. Incidence and outcomes of spinal cord injury clinical syndromes. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 30, n. 3, p. 215-24, 2007. ISSN 1079-0268.

MCKINLEY, W. O.; SEEL, R. T.; HARDMAN, J. T. Nontraumatic spinal cord injury: incidence, epidemiology, and functional outcome. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 80, n. 6, p. 619-23, Jun 1999. ISSN 0003-9993.

MEAD, G. E. et al. Exercise for depression. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 3, p. Cd004366, 2009. ISSN 1361-6137. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD004366.pub4/abstract>.

MENENDEZ, J. A.; LUPU, R. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, p. 763-777, 2007

MERLETTI, R. Spectral variables do not necessarily reflect histological types of recruited motor units. **J Appl Physiol** (1985), v. 105, n. 5, p. 1679-80, Nov 2008. ISSN 8750-7587 (Print) 0161-7567.

MERLETTI, R. et al. Advances in surface EMG: recent progress in detection and processing techniques. **Crit Rev Biomed Eng**, v. 38, n. 4, p. 305-45, 2010. ISSN 0278-940X (Print)

0278-940x. Disponível em: <http://www.dl.begellhouse.com/journals/4b27cbfc562e21b8.606681d65e2ccb94.45714f720ecf76f5.html>.

MICHAEL-TITUS, A. T. Omega-3 fatty acids and neurological injury. **Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids**, v. 77, n. 5-6, p. 295-300, Nov-Dec 2007. ISSN 0952-3278. Disponível em:

<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=18036801>
<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:18036801&id=doi:&issn=0952-3278&isbn=&volume=77&issue=5&spage=295&pages=295-300&date=2007&title=Prostaglandins+Leukotrienes+%26+Essential+Fatty+Acids&atitle=Omega-3+fatty+acids+and+neurological+injury.&aulast=Michael-Titus>.

MILES, E. A.; CALDER, P. C. Fatty acids, lipid emulsions and the immune and inflammatory systems. **World Rev Nutr Diet**, v. 112, p. 17-30, 2015. ISSN 0084-2230.

MINIHANE, A. M. et al. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. **Br J Nutr**, v. 114, n. 7, p. 999-1012, Oct 14 2015. ISSN 0007-1145.

MODLESKY, C. M. et al. Assessment of skeletal muscle mass in men with spinal cord injury using dual-energy X-ray absorptiometry and magnetic resonance imaging. **Journal of Applied Physiology**, v. 96, n. 2, p. 561-5, Feb 2004. ISSN 8750-7587.

MODLESKY, C. M. et al. Deteriorated geometric structure and strength of the midfemur in men with complete spinal cord injury. **Bone**, v. 36, n. 2, p. 331-9, Feb 2005. ISSN 8756-3282.

MOJTAHEDI, M. C. et al. The association between regional body composition and metabolic outcomes in athletes with spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 46, n. 3, p. 192-197, Mar 2008. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://000253815900005 >.

MORSE L D et al. Dual Energy X-Ray Absorptiometry of the Distal Femur May Be More Reliable than the Proximal Tibia in Spinal Cord Injury. **Arch Phys Med Rehabil.** , v. 90, n. 5, p. 827-831, May 2009.

MORSE L R et al. VA-Based Survey of Osteoporosis Management in Spinal Cord Injury. **National Institutes of Health**, v. 1, n. 3, p. 240-44, March 2009.

MOZAFFARIAN, D. Fish and n-3 fatty acids for the prevention of fatal coronary heart disease and sudden cardiac death. **The American Journal of Clinical Nutrition** v. 87, n. (suppl), p. 1991S-6S, 2008.

NALIWAIKO, K. et al. Effects of fish oil on the central nervous system: a new potential antidepressant? **Nutritional Neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 91-9, Apr 2004. ISSN 1028-415X. Disponível em:

<<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=15279495>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:15279495&id=doi&issn=1028-415X&isbn=&volume=7&issue=2&spage=91&pages=91-9&date=2004&title=Nutritional+Neuroscience&atitle=Effects+of+fish+oil+on+the+central+nervous+system%3A+a+new+potential+antidepressant%3F&aurlast=Naliwaiko>>.

NETTLETON, J. A. **Omega-3 fatty acids and health.** . New York: Chapman & Hall, 1995.

NOREAU, L. et al. Secondary impairments after spinal cord injury: a population-based study. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 79, n. 6, p. 526-35, Nov-Dec 2000. ISSN 0894-9115.

NORTON, L. Spinal cord injury, Australia 2007-08. Injury research and statistics series no. 52. **Canberra: AIHW.**, 2010.

NUMEROF, R. P.; DINARELLO, C. A.; ASADULLAH, K. Cytokines as potential therapeutic targets for inflammatory skin diseases. **Eur Cytokine Netw**, v. 16, n. 2, p. 101-3, Jun 2005. ISSN 1148-5493 (Print)

1148-5493. Disponível em: <[http://www.jle.com/download/ecn-265823-cytokines as potential therapeutic targets for inflammatory skin diseases--V0mcTX8AAQEAAFUxvn0AAAAAN-a.pdf](http://www.jle.com/download/ecn-265823-cytokines%20as%20potential%20therapeutic%20targets%20for%20inflammatory%20skin%20diseases--V0mcTX8AAQEAAFUxvn0AAAAAN-a.pdf)>.

O'SHEA, J. J.; MA, A.; LIPSKY, P. Cytokines and autoimmunity. **Nat Rev Immunol**, v. 2, n. 1, p. 37-45, Jan 2002. ISSN 1474-1733 (Print)

1474-1733.

OLSON, C. B.; CARPENTER, D. O.; HENNEMAN, E. Orderly recruitment of muscle action potentials. **Archives of Neurology**, v. 19, n. 6, p. 591-7, Dec 1968. ISSN 0003-9942. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med1&AN=5726771>>.

OWEN, N. et al. Too much sitting: the population health science of sedentary behavior. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 38, n. 3, p. 105-13, Jul 2010. ISSN 0091-6331. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3404815/pdf/nihms229379.pdf>>.

PALMA, V. et al. Spinal cord injury: some epidemiological data. A review of 233 cases. **Acta Neurologica**, v. 14, n. 1, p. 29-38, Feb 1992. ISSN 0001-6276.

PANNEK, J.; GOCKING, K.; BERSCH, U. 'Neurogenic' urinary tract dysfunction: don't overlook the bowel! **Spinal Cord**, v. 47, n. 1, p. 93-4, Jan 2009. ISSN 1362-4393.

PANNEK, J. et al. Does optimizing bladder management equal optimizing quality of life? Correlation between health-related quality of life and urodynamic parameters in patients with spinal cord lesions. **Urology**, v. 74, n. 2, p. 263-6, Aug 2009.

PARK, S.-K. et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on abdominal fat in obese middle-aged women. **Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science**, v. 22, n. 3, p. 129-135, May 2003. ISSN 1345-3475 (ISSN print). Disponível em: <<Go to ISI>://BIOSIS:PREV200300497613 >.

PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. **Physiol Rev**, v. 88, n. 4, p. 1379-406, Oct 2008. ISSN 0031-9333 (Print)

0031-9333. Disponível em: <<http://physrev.physiology.org/content/physrev/88/4/1379.full.pdf>>.

PEREIRA C; JESUS R. Epidemiologia do Traumatismo Raquimedular. Epidemiology of spinal injury in Aracaju. A prospective series. **Jornal Brasileiro de Neurocirurgia** v. 22, n. 2, p. 26-31, 2011.

PERRET, C.; STOFFEL-KURT, N. Comparison of nutritional intake between individuals with acute and chronic spinal cord injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 34, n. 6, p. 569-575, Nov 2011. ISSN 1079-0268. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000298669100007 >.

PETROVSKY, N.; HARRISON, L. C. The chronobiology of human cytokine production. **Int Rev Immunol**, v. 16, n. 5-6, p. 635-49, 1998. ISSN 0883-0185 (Print)

0883-0185.

PETROVSKY, N.; MCNAIR, P.; HARRISON, L. C. Diurnal rhythms of pro-inflammatory cytokines: regulation by plasma cortisol and therapeutic implications. **Cytokine**, v. 10, n. 4, p. 307-12, Apr 1998. ISSN 1043-4666 (Print)

1043-4666.

PICKELSIMER, E.; SHIROMA, E. J.; WILSON, D. A. Statewide Investigation of Medically Attended Adverse Health Conditions of Persons With Spinal Cord Injury. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 33, n. 3, p. 221-231, ISSN 1079-0268. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000281007700004 >.

POPOVIC, M. R. et al. Modular transcutaneous functional electrical stimulation system. **Medical Engineering & Physics**, v. 27, n. 1, p. 81-92, Jan 2005. ISSN 1350-4533.

POPOVICH, P. et al. Damage control in the nervous system: beware the immune system in spinal cord injury. **Nature Medicine**, v. 15, n. 7, p. 736-7, Jul 2009.

PROSKE, U.; PROSKE, U. Kinesthesia: the role of muscle receptors. **Muscle & Nerve**, v. 34, n. 5, p. 545-58, Nov 2006. ISSN 0148-639X.

RAGNARSSON, K. T. Physiologic effects of functional electrical stimulation-induced exercises in spinal cord-injured individuals. **Clinical Orthopaedics & Related Research**, n. 233, p. 53-63, Aug 1988. ISSN 0009-921X.

_____. Functional electrical stimulation after spinal cord injury: current use, therapeutic effects and future directions. **Spinal Cord**, v. 46, n. 4, p. 255-74, Apr 2008. ISSN 1362-4393.

RAPIDI, C. A. et al. Neuropathic bladder dysfunction in patients with motor complete and sensory incomplete spinal cord lesion. **Spinal Cord**, v. 46, n. 10, p. 673-8, Oct 2008. ISSN 1362-4393.

REIS, H. F. et al. Prevalence and variables associated with physical inactivity in individuals with high and low socioeconomic status. **Arq Bras Cardiol**, v. 92, n. 3, p. 193-8, 197-202, Mar 2009. ISSN 0066-782x.

ROBERTS D; LEE W; CUNEO RC, E. A. Longitudinal study of bone turnover after acute spinal cord injury. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 83, n. 2, p. 415-22, February 1998.

RODRIGUEZ, G. P. et al. Collagen metabolite excretion as a predictor of bone and skin related complications in spinal cord injury. . **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 70, p. 442-444, 1989.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 83, p. 217-244, 1999.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 83, p. 217-244, 1999.

ROUBENOFF, R. et al. Cytokines, insulin-like growth factor 1, sarcopenia, and mortality in very old community-dwelling men and women: the Framingham Heart Study. **Am J Med**, v. 115, n. 6, p. 429-35, Oct 15 2003. ISSN 0002-9343 (Print)

0002-9343. Disponível em: <[http://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(03\)00478-9/abstract](http://www.amjmed.com/article/S0002-9343(03)00478-9/abstract)>.

ROUND, J. M. et al. FIBER AREAS AND HISTOCHEMICAL FIBER TYPES IN THE QUADRICEPS MUSCLE OF PARAPLEGIC SUBJECTS. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 116, n. 2, p. 207-211, 1993. ISSN 0022-510X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1993LF86300013 >.

RUDROFF, T.; STAUDENMANN, D.; ENOKA, R. M. Electromyographic measures of muscle activation and changes in muscle architecture of human elbow flexors during fatiguing contractions. **J Appl Physiol (1985)**, v. 104, n. 6, p. 1720-6, Jun 2008. ISSN 8750-7587 (Print)

0161-7567. Disponível em: <<http://jap.physiology.org/content/jap/104/6/1720.full.pdf>>.

SABOUR, H. et al. The effects of n-3 fatty acids on inflammatory cytokines in osteoporotic spinal cord injured patients: A randomized clinical trial. **J Res Med Sci**, v. 17, n. 4, p. 322-7, Apr 2012. ISSN 1735-1995 (Print)

1735-1995.

SABOUR, H. et al. Omega-3 fatty acids' effect on leptin and adiponectin concentrations in patients with spinal cord injury: A double-blinded randomized clinical trial. **J Spinal Cord Med**, v. 38, n. 5, p. 599-606, Sep 2015. ISSN 1079-0268 (Print)

1079-0268.

SADOWSKA-KREPA, E. et al. Blood metabolic response to a long-term wheelchair rugby training. **Spinal Cord**, Oct 20 2015. ISSN 1362-4393.

SAÚDE, M. D. S. S. D. A. À. **Diretrizes de Atenção à Pessoa com Lesão Medular. ESPECIALIZADA**, D. D. A. P. E. E. E. D. D. A. Brasília: Ministério da Saúde: 69 p. 2012.

SCHMIDT, K. D.; CHAN, C. W. Thermoregulation and fever in normal persons and in those with spinal cord injuries. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 67, n. 5, p. 469-75, May 1992. ISSN 0025-6196.

SCHWAB, J. M.; SERHAN, C. N. Lipoxins and new lipid mediators in the resolution of inflammation. **Curr Opin Pharmacol**, v. 6, n. 4, p. 414-20, Aug 2006. ISSN 1471-4892 (Print)
1471-4892.

SEKHON, L. H.; FEHLINGS, M. G. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. **Spine**, v. 26, n. 24 Suppl, p. S2-12, Dec 15 2001. ISSN 0362-2436.

SELIMOVA, L. M. et al. [CYTOKINES DURING THE HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS INFECTION TYPE 1(HIV-1)]. **Vopr Virusol**, v. 61, n. 1, p. 39-41, 2016. ISSN 0507-4088 (Print)
0507-4088.

SEMMLER, J. G.; KUTZSCHER, D. V.; ENOKA, R. M. Limb immobilization alters muscle activation patterns during a fatiguing isometric contraction. **Muscle Nerve**, v. 23, n. 9, p. 1381-92, Sep 2000. ISSN 0148-639X (Print)
0148-639x.

SERHAN, C. N. et al. Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. **Faseb j**, v. 21, n. 2, p. 325-32, Feb 2007. ISSN 0892-6638.

SERHAN, C. N.; HONG, S.; LU, Y. Lipid mediator informatics-lipidomics: novel pathways in mapping resolution. **Aaps j**, v. 8, n. 2, p. E284-97, 2006. ISSN 1550-7416.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia Humana: uma abordagem integrada**. 2010. ISBN 9678-85-363-2284-1.

SIMOPOULOS, A. P. Summary of the NATO advanced research workshop on dietary omega 3 and omega 6 fatty acids: biological effects and nutritional essentiality. **J Nutr**, v. 119, n. 4, p. 521-8, Apr 1989. ISSN 0022-3166 (Print)
0022-3166.

_____. Overview of evolutionary aspects of omega 3 fatty acids in the diet. **World Rev Nutr Diet**, v. 83, p. 1-11, 1998. ISSN 0084-2230 (Print)
0084-2230.

_____. Essential fatty acids in health and chronic disease. **Am J Clin Nutr**, v. 70, n. 3 Suppl, p. 560s-569s, Sep 1999. ISSN 0002-9165 (Print)
0002-9165. Disponível em: <<http://ajcn.nutrition.org/content/70/3/560s.full.pdf>>.

_____. Human requirement for N-3 polyunsaturated fatty acids. **Poult Sci**, v. 79, n. 7, p. 961-70, Jul 2000. ISSN 0032-5791 (Print)

0032-5791. Disponível em: <<http://ps.oxfordjournals.org/content/79/7/961.full.pdf>>.

_____. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: The epidemiological evidence. **Environ Health Prev Med**, v. 6, n. 4, p. 203-9, Jan 2002. ISSN 1342-078X (Print)

1342-078x. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2723470/pdf/12199_2008_Article_BF02897971.pdf>.

_____. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. **Biomed Pharmacother**, v. 60, n. 9, p. 502-7, Nov 2006. ISSN 0753-3322 (Print)

0753-3322. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332206002435>>.

_____. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 233, n. 6, p. 674-88, Jun 2008a. ISSN 1535-3702 (Print)

1535-3699. Disponível em: <<http://ebm.sagepub.com/content/233/6/674.full.pdf>>.

_____. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 17 Suppl 1, p. 131-4, 2008b. ISSN 0964-7058 (Print)

0964-7058.

SINGHAL, B. et al. Neurological outcome in surgically treated patients with incomplete closed traumatic cervical spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 46, n. 9, p. 603-607, 2008. ISSN 1362-4393. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000258916000004 >.

SLADE, J. M. et al. Trabecular bone is more deteriorated in spinal cord injured versus estrogen-free postmenopausal women. **Osteoporosis International**, v. 16, n. 3, p. 263-72, Mar 2005. ISSN 0937-941X.

SPOSITO, A. C. et al. [IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. **Arq Bras Cardiol**, v. 88 Suppl 1, p. 2-19, Apr 2007. ISSN 0066-782x.

SPUNGEN AM et al. The relationship between total-body potassium and resting energy expenditure in individuals with paraplegia. . **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 74, n. 9, p. 965-968, 1993.

SPUNGEN, A. M. et al. Factors influencing body composition in persons with spinal cord injury: a cross-sectional study. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, n. 6, p. 2398-2407, 2003. ISSN 8750-7587. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000187004400031 >.

STACKHOUSE, S. K. et al. Maximum voluntary activation in nonfatigued and fatigued muscle of young and elderly individuals. **Phys Ther**, v. 81, n. 5, p. 1102-9, May 2001. ISSN 0031-9023 (Print)

0031-9023. Disponível em: <<http://ptjournal.apta.org/content/ptjournal/81/5/1102.full.pdf>>.

STAUDENMANN, D.; TAUBE, W. Brachialis muscle activity can be assessed with surface electromyography. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 25, n. 2, p. 199-204, Apr 2015. ISSN 1050-6411.

STRAUSS, D. J. et al. Trends in life expectancy after spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 87, n. 8, p. 1079-85, Aug 2006. ISSN 0003-9993. Disponível em: <<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=16876553>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:16876553&id=doi&issn=0003-9993&isbn=&volume=87&issue=8&spage=1079&pages=1079-85&date=2006&title=Archives+of+Physical+Medicine+%26+Rehabilitation&atitle=Trends+in+life+expectancy+after+spinal+cord+injury.&aulast=Strauss>>.

SUBBARAO, J. V.; KLOPFSTEIN, J.; TURPIN, R. Prevalence and impact of wrist and shoulder pain in patients with spinal cord injury. **J Spinal Cord Med**, v. 18, n. 1, p. 9-13, Jan 1995. ISSN 1079-0268 (Print)

1079-0268.

SUN D et al. Dietary n-3 Fatty Acids Decrease Osteoclastogenesis and Loss of Bone Mass in Ovariectomized Mice. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 18, n. 7, p. 1206-1216, 2003.

TANHOFFER R. A. et al. Comparison of methods to assess energy expenditure and physical activity in people with spinal cord injury. **The Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 35, n. 1, p. 35-45, 2012.

TANHOFFER, R. A. et al. Comparison of methods to assess energy expenditure and physical activity in people with spinal cord injury. **J Spinal Cord Med**, v. 35, n. 1, p. 35-45, Jan 2012. ISSN 1079-0268 (Print)

1079-0268.

Disponível

em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3240915/pdf/scm-35-35.pdf>>.

_____. Exercise, energy expenditure, and body composition in people with spinal cord injury. **J Phys Act Health**, v. 11, n. 7, p. 1393-400, Sep 2014. ISSN 1543-3080.

TANHOFFER, R. A. et al. Energy expenditure in individuals with spinal cord injury quantified by doubly labeled water and a multi-sensor armband. **J Phys Act Health**, v. 12, n. 2, p. 163-70, Feb 2015. ISSN 1543-3080.

TANHOFFER, R. A. et al. Glutamine concentration and immune response of spinal cord-injured rats. **Journal of Spinal Cord Medicine**, v. 30, n. 2, p. 140-6, 2007. ISSN 1079-0268.

TAPIERO, H. et al. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, n. 5, p. 215-22, Jul 2002. ISSN 0753-3322. Disponível em:

<<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=12199620>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:12199620&id=doi:&issn=0753-3322&isbn=&volume=56&issue=5&spage=215&pages=215-22&date=2002&title=Biomedicine+%26+Pharmacotherapy&atitle=Polyunsaturated+fatty+acid+s+%28PUFA%29+and+eicosanoids+in+human+health+and+pathologies.&aulast=Tapiero>>.

TEDERKO, P. et al. The role of rehabilitation and methodological problems in spinal cord repair therapies. **Ortop Traumatol Rehabil**, v. 11, n. 4, p. 304-16, Jul-Aug 2009. ISSN 1509-3492 (Print)

1509-3492.

THOMAS, C. K. et al. Human spinal cord injury: motor unit properties and behaviour. **Acta Physiol (Oxf)**, v. 210, n. 1, p. 5-19, Jan 2014. ISSN 1748-1708.

THOMPSON, C. D. et al. The therapeutic role of interleukin-10 after spinal cord injury. **J Neurotrauma**, v. 30, n. 15, p. 1311-24, Aug 1 2013. ISSN 0897-7151.

THOMPSON, P. D. et al. ACSM's new preparticipation health screening recommendations from ACSM's guidelines for exercise testing and prescription, ninth edition. **Curr Sports Med Rep**, v. 12, n. 4, p. 215-7, Jul-Aug 2013. ISSN 1537-890x.

UEBELHART, D. et al. Bone metabolism in spinal cord injured individuals and in others who have prolonged immobilisation. A review. **Paraplegia**, v. 33, p. 669-673, 1995.

VAN DEN BERG, M. E. et al. Incidence of spinal cord injury worldwide: a systematic review. **Neuroepidemiology**, v. 34, n. 3, p. 184-92; discussion 192, 2010. ISSN 0251-5350.

VAN DER PLOEG, H. P. et al. The Physical Activity Scale for Individuals with Physical Disabilities: Test-Retest Reliability and Comparison With an Accelerometer. **Journal of Physical Activity & Health**, v. 4, n. 1, p. 96-100, 2007. ISSN 15433080. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=s3h&AN=23756364&lang=pt-br&site=ehost-live>>.

VAN MIDDENDORP, J. J.; SANCHEZ, G. M.; BURRIDGE, A. L. The Edwin Smith papyrus: a clinical reappraisal of the oldest known document on spinal injuries. **European Spine Journal**, Berlin/Heidelberg, v. 19, n. 11, p. 1815-1823, 08/10

05/20/received

07/11/accepted 2010. ISSN 0940-6719

1432-0932. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2989268/>
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2989268/pdf/586_2010_Article_1523.pdf>.

VESCOVI, A. L.; GALLI, R.; REYNOLDS, B. A. Brain tumour stem cell. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, p. 425-436, 2008.

WALKER, C. G. et al. The Pattern of Fatty Acids Displaced by EPA and DHA Following 12 Months Supplementation Varies between Blood Cell and Plasma Fractions. **Nutrients**, v. 7, n. 8, p. 6281-93, Aug 2015. ISSN 2072-6643.

WALTERS, J. L.; BUCHHOLZ, A. C.; MARTIN GINIS, K. A. Evidence of dietary inadequacy in adults with chronic spinal cord injury. **Spinal Cord**, v. 47, n. 4, p. 318-22, Apr 2009. ISSN 1362-4393 (Print)

1362-4393 (Linking).

WESTGREN, N.; LEVI, R. Quality of life and traumatic spinal cord injury. **Archives of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 79, n. 11, p. 1433-9, Nov 1998. ISSN 0003-9993.

WIKTOROWSKA-OWCZAREK, A.; BEREZINSKA, M.; NOWAK, J. Z. PUFAs: Structures, Metabolism and Functions. **Adv Clin Exp Med**, v. 24, n. 6, p. 931-41, Nov-Dec 2015. ISSN 1899-5276 (Print)

1899-5276.

WILLIAMS, C. M. Dietary fatty acids and human health. **Annales De Zootechnie** v. 49, p. 165-180, 2000.

WILLIAMS, C. S. et al. Gastroenterology. **Gastroenterology**, v. 111, p. 1134-1140, 1996.

WONG, S. et al. Is undernutrition risk associated with an adverse clinical outcome in spinal cord-injured patients admitted to a spinal centre? **Eur J Clin Nutr**, v. 68, n. 1, p. 125-30, Jan 2014. ISSN 0954-3007.

WONG, S. et al. Nutritional supplement usage in patients admitted to a spinal cord injury center. **J Spinal Cord Med**, v. 36, n. 6, p. 645-51, Nov 2013. ISSN 1079-0268 (Print)

1079-0268.

WOODS, J. A.; VIEIRA, V. J.; KEYLOCK, K. T. Exercise, inflammation, and innate immunity. **Neurol Clin**, v. 24, n. 3, p. 585-99, Aug 2006. ISSN 0733-8619 (Print)

0733-8619.

WU, D.; MEYDANI, S. N. <italic>n</italic>-3 Polyunsaturated fatty acids and immune function. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 57, n. 04, p. 503-509

M3 - 10.1079/PNS19980074, 1998. ISSN 1475-2719. Disponível em: <
href="<http://dx.doi.org/10.1079/PNS19980074>>.

XAVIER, H. T. et al. [V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis]. **Arq Bras Cardiol**, v. 101, n. 4 Suppl 1, p. 1-20, Oct 2013. ISSN 0066-782x.

YAMAZAKI, R. K. et al. Low fish oil intake improves insulin sensitivity, lipid profile and muscle metabolism on insulin resistant MSG-obese rats. **Lipids in Health & Disease**, v. 10, p. 66, 2011. ISSN 1476-511X. Disponível em:
<<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=medl&AN=21526994>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:21526994&id=doi:&issn=1476-511X&isbn=&volume=10&issue=&spage=66&pages=66&date=2011&title=Lipids+in+Health+%26+Disease&atitle=Low+fish+oil+intake+improves+insulin+sensitivity%2C+lipid+profile+and+muscle+metabolism+on+insulin+resistant+MSG-obese+rats.&aulast=Yamazaki>>.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S.; MOSTOFISKY, D. I. Essential fatty acids and the brain: from infancy to aging. **Neurobiology of Aging**, v. 26 Suppl 1, p. 98-102, Dec 2005. ISSN 0197-4580. Disponível em:
<<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=16226347>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:16226347&id=doi:&issn=0197-4580&isbn=&volume=26&issue=1&spage=98&pages=98-102&date=2005&title=Neurobiology+of+Aging&atitle=Essential+fatty+acids+and+the+brain%3A+from+infancy+to+aging.&aulast=Yehuda>>.

YEKUTIEL, M. et al. The prevalence of hypertension, ischaemic heart disease and diabetes in traumatic spinal cord injured patients and amputees. **Paraplegia**, v. 27, n. 1, p. 58-62, Feb 1989. ISSN 0031-1758 (Print)

0031-1758.

YU, K. et al. Neurophysiological evidence of spared upper motor conduction fibers in clinically complete spinal cord injury: discomplete SCI in rats. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 189, n. 1-2, p. 23-36, Aug 15 2001. ISSN 0022-510X. Disponível em:
<<http://ezproxy.library.usyd.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=11535230>

<http://DD8GH5YX7K.search.serialssolutions.com/?sid=OVID:medline&id=pmid:11535230&id=doi:&issn=0022-510X&isbn=&volume=189&issue=1&spage=23&pages=23-36&date=2001&title=Journal+of+the+Neurological+Sciences&atitle=Neurophysiological+evidence+of+spared+upper+motor+conduction+fibers+in+clinically+complete+spinal+cord+injury%3A+discomplete+SCI+in+rats.&aulast=Yu>>.

ZERAT FILHO, M. N. J., ARCHIMEDES; REIS, RODOLFO BORGES DOS. **Urologia Fundamental**. São Paulo: Planmark, 2010. ISBN 978-85-60566-17-4.

APÊNDICES

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes, Profa. Dra. Kátia Naliwaiko, Profa. Dra. Neiva Leite, Prof. Dr. Rogério de Fraga, Dr. Ricardo Antonio Tanhoffer, e doutoranda Aldre Izabel Pchevozniki Tanhoffer, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você que tem entre 18 e 50 anos, com lesão medular completa ou incompleta, de qualquer nível neurológico, com mais de 1 ano de lesão, que pratique ou não atividade física regular a participar de um estudo intitulado **“Efeitos da suplementação com óleo de peixe e prática de atividade física regular sobre doenças crônicas não transmissíveis em indivíduos com lesão medular”**. Doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) são um grupo de doenças que aparecem devido a maus hábitos de saúde como inatividade física, alimentação não saudável, tabagismo, consumo excessivo de álcool, entre outros. Algumas das doenças chamadas de DCNTs são diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares (hipertensão, aterosclerose, angina, infarto), doenças respiratórias crônicas (asma, bronquite, DPOC) e doenças musculoesqueléticas (artrose, osteoporose) entre outras.

Portanto, neste estudo iremos verificar a sua saúde geral fazendo alguns testes e exames que estão explicados neste texto e serão agendados com você. O estudo durará seis meses sendo que uma série de testes serão feitos no início do estudo, 3 meses e 6 meses depois do início. Além disto alguns testes serão repetidos todo mês. Com isto, vamos verificar a quantidade de atividade física que você pratica e qual é a qualidade de sua alimentação (se você ingere todos os nutrientes necessários para ser saudável), além de verificar sua saúde geral como dito anteriormente. Durante estes seis meses, serão entregues cápsulas de óleo de peixe para você tomar diariamente. O óleo de peixe será utilizado porque existem estudos que demonstram que este suplemento pode auxiliar na manutenção de uma vida saudável. Entre estes estudos, verificou-se melhora no sistema imunológico, por meio de diminuição de processos inflamatórios (diminuição de gripes, resfriados, inflamações e infecções), diminuição de riscos cardiovasculares (hipertensão, aterosclerose, angina, infarto), manutenção de qualidade óssea e melhora da capacidade física entre outros benefícios. Apesar destes benefícios, a suplementação com cápsulas de óleo de peixe pode apresentar alguns efeitos colaterais tais como, sabor de peixe ou mau hálito e odor de peixe durante os primeiros dias de ingestão, distúrbios gastrintestinais (que podem ser desde fezes gordurosas e surtos de diarreia até o aumento de eructações - arrotos, indigestão, refluxo ácido, ou dor abdominal), aumento do tempo de sangramento (sangramento gengival e nasal, porém, este é menor que o causado pelo uso de aspirina), aumento dos níveis de gordura no sangue (colesterol total), aumento da ingestão calórica (excesso de calorias) e do peso corporal.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

Estes efeitos colaterais não aparecem sempre e dependem do tipo de cápsula de óleo de peixe (composição), bem como da quantidade diária utilizada. Estudos demonstram que doses abaixo de 3 gramas por dia tem probabilidade mínima de aparecimento de efeitos

colaterais que comprometam a saúde e o bem estar das pessoas que estão tomando a cápsula de óleo de peixe e que doses acima de 3 gramas ao dia podem em indivíduos diabéticos, causar um aumento nos níveis de açúcar no sangue. Em pesquisas feitas com a quantidade de óleo de peixe que você tomará por dia o efeito colateral relatado por alguns participantes foi o sabor de peixe ou mau hálito e odor de peixe durante os primeiros dias de ingestão ou quando tomavam a cápsula fora das refeições. Se você sentir qualquer desconforto ou efeito colateral quando estiver fazendo a suplementação, pedimos que entre em contato com os pesquisadores (telefones no final deste texto), e estes tomarão as providências necessárias juntamente com o médico colaborador desta pesquisa.

Os exames que você irá realizar serão laboratoriais (de sangue, urina e fezes), para avaliar a qualidade de seus ossos (densitometria óssea) e a quantidade de gordura que você tem em seu corpo (ressonância magnética espectroscópica) e ultrassom da região de pescoço (para mensurar a espessura da carótida). Os testes serão para mensurar a força e qualidade de seus músculos dos membros superiores (braços) e a sua capacidade física, que nos mostrará quanto esforço você consegue fazer por meio de um teste físico e do preenchimento de três questionários que nos auxiliarão para verificar a quantidade e os tipos de exercício e quanto de atividade física você faz por semana. Além disto, serão realizados outros dois questionários, um para analisar o seu estado nutricional (se você come todos os nutrientes necessários diariamente e qual a quantidade) e outro para avaliar a sua percepção de qualidade de vida (nível de satisfação/felicidade).

Os resultados obtidos com este estudo serão repassados para você e também irão gerar importante produção de conhecimento sobre o tema, e assim contribuir para o desenvolvimento de estratégias visando a prevenção e o tratamento de doenças como a osteoporose, obesidade e problemas cardiovasculares que podem afetar pessoas com lesão medular. Portanto, o objetivo desta pesquisa é investigar o efeito da atividade física e da suplementação alimentar com cápsula de óleo de peixe na saúde geral do indivíduo após lesão medular.

Caso você queira participar da pesquisa, será necessário fazer alguns procedimentos que estão descritos abaixo, separados por dia de avaliação e local onde você deverá ir.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

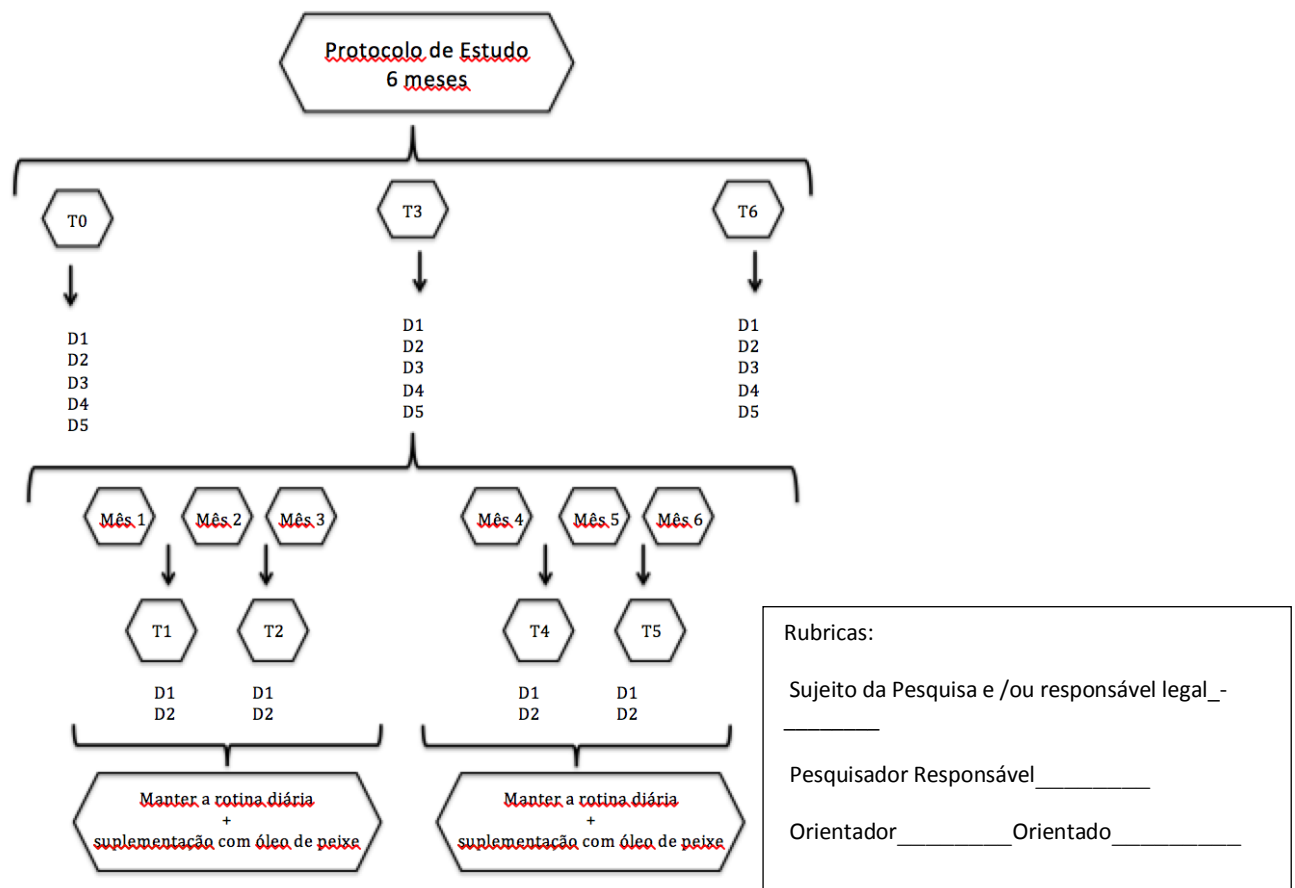
Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

A bateria de testes será realizada em 5 dias, sendo que nos **Dias 1, 2, 3 e 4** terão **duração máxima de quatro horas**, e serão feitos sempre pela manhã. A rotina dos dias **3 e 4** será repetida 3 vezes, sendo ao início (T0), meio (T3) e término da suplementação (T6). Os exames do **dia 1 e 2** serão repetidos 7 vezes com intervalo de 30 dias entre as coletas (T0,

T1, T2, T3, T4, T5 e T6). Os exames do **Dia 5** serão feitos na primeira e última bateria de testes (T0 e T6). Estes serão agendados diretamente com você e poderão ser realizados em qualquer horário do dia, sendo que a **duração máxima será de quatro horas**. Todo o estudo acontecerá num período máximo de 7 meses desde o recrutamento até a finalização dos resultados, os quais serão entregues e explicados para você.

Todos os participantes deste trabalho seguirão o mesmo protocolo, farão a primeira bateria de testes (T0) e será pedido para que você mantenha a sua rotina diária, sem acrescentar nenhum tipo de atividade física a mais do que as que você costuma fazer. Após o término da bateria de testes T0, serão fornecidas cápsulas de óleo de peixe que você deverá tomar todos os dias pelos próximos seis meses. Deverão ser ingeridas 2 cápsulas de óleo de peixe por dia, uma após o almoço e uma após o jantar.

Como esta pesquisa é longa, depois que você terminar os 3 primeiros meses de suplementação, os pesquisadores responsáveis pelo projeto entrarão em contato com você para verificar se você gostaria de continuar recebendo as cápsulas de óleo de peixe e de fazer os exames até completar os seis meses, para então finalizar a pesquisa por completo. Os procedimentos deste estudo podem ser visualizados na figura abaixo:



Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

Bateria ou rotina de testes

Como as avaliações serão feitas pela manhã (tempo estimado de 4 horas - das 8:00 as 12:00 horas), você receberá um lanche leve e terá um período de descanso entre os testes. Um pesquisador será responsável por explicar todos os procedimentos para você, tirar todas as dúvidas que você tiver, agendar os dias, locais e horários das avaliações, além de

acompanhá-lo e auxiliá-lo no que for preciso durante todas as avaliações. As avaliações serão realizadas por mais de um profissional para que os testes sejam eficientes, e que tenham menos riscos. A equipe que trabalhará com você nos dias de avaliação é formada por médicos, fisioterapeutas, educadores físicos e biólogos sendo que cada profissional tem experiência nas avaliações que farão e receberão treinamento para que todos os procedimentos ocorram da melhor maneira possível.

A seguir estão detalhadas quais avaliações que serão realizadas em cada dia.

Dia 1

Local: Universidade Federal do Paraná – Centro Politécnico

Duração Máxima: 4 horas

- Anamnese, que será realizada por um médico. Este procedimento é como uma consulta com um clínico geral, onde você será questionado sobre sua saúde, hábitos de vida e outros tópicos como nome, data de nascimento, gênero (sexo), estado civil, ocupação profissional, grau de escolaridade, diagnóstico clínico, causa da lesão, tipo da lesão, tempo de lesão, cirurgias recentes, medicamentos de uso contínuo, inspeção da pele, meio de locomoção e transporte.
- Medidas Antropométricas (peso, estatura, circunferências)
- Testes de integridade Osteoarticular de membros superiores. Este teste será realizado por uma fisioterapeuta e avaliará se você apresenta algum tipo de dor ou desconforto nos ombros, cotovelos e mãos, bem como qual a amplitude de movimento que você consegue atingir e a força dos seus músculos.
- Questionários para verificação do nível de atividade física, da percepção de qualidade de vida e frequência alimentar.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.

Dia 2

Local: Universidade Federal Do Paraná – Farmácia Escola, Campus Jardim Botânico e Politécnico

Duração Máxima: 4 horas

- Coleta de Amostra de Sangue, será realizada por um profissional capacitado, neste dia você deverá estar de jejum por no mínimo 12 horas.
- Coleta de Amostra de Urina, deverá ser coletado a primeira urina do dia em um frasco que será dado a você no dia 1.
- Coleta de Amostra de Fezes, deverá ser coletado em um frasco específico que será dado a você no dia 1.
- Taxa Metabólica Basal, que é um teste feito com um aparelho que é conectado a uma máscara que será colocada em sua face. Para este procedimento você ficará deitado por meia hora em uma maca de altura ideal para transferência da cadeira de rodas. Este procedimento não causa dor e nenhum tipo de desconforto.
- Mensuração da Espessura da Carótida, será realizada por um profissional capacitado, que fará um ultrassom da região do pescoço logo após o término do testes acima. Este procedimento não causa dor e nenhum tipo de desconforto.

Dia 3

Local: Departamento de Educação Física da Universidade Federal do Paraná.

Duração Máxima: 4 horas

- Teste Aeróbio, que é realizado em um cicloergometro de braço , no qual você irá “pedalar” com os braços mantendo a velocidade constante e aumentando a resistência de 2 em 2 minutos até completar 12 minutos ou você pedir que o teste seja interrompido.
- Avaliação pulmonar, será avaliada em repouso por meio de espirômetro portátil, em posição sentada e com o uso de clipe nasal você deverá inspirar (encher os pulmões completamente de ar) e logo após expirar, assoprando no instrumento que será colocado na sua boca .
- Avaliação broncoespasmo induzido pelo exercício (BIE), este teste será realizado ao mesmo tempo que o teste aeróbio sendo que após parar o teste você fará a avaliação pulmonar descrita anteriormente novamente
- Avaliação de sintomas de doenças alérgicas, realizada por meio de um questionário.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR Telefone:
(41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.

Dia 4

Local: Departamento de Educação Física da Universidade Federal do Paraná.

Duração Máxima: 4 horas

- Teste de Força dos músculos Bíceps Braquial e Tríceps Braquial, para a realização deste teste você segurará uma manopla que é ligada por meio de roldanas a uma célula de carga, que é responsável por medir quanta força você consegue fazer.
- Eletromiografia (EMG), antes do teste acima ser realizado, serão colocados dois eletrodos auto adesivos no músculo que será testado. Estes eletrodos verificarão a qualidade da contração do seu músculo.

Dia 5

Local: Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Duração Máxima: 4 horas

- Densitometria Óssea é uma exame de imagem para a avaliação da qualidades dos ossos, que será realizado em uma clínica especializada, o qual é indolor e não precisa de nenhuma preparação específica para ser feito.

No **Dia 2** em que você fará jejum, é possível que você sinta fome e náusea, tontura e tremor pela hipoglicemia, além do desconforto da agulhada necessária para a coleta de sangue. Você será acompanhado por um médico, e após os testes serem realizados será oferecido um lanche para você. Nos testes de aptidão física e força muscular que serão realizados nos **Dias 3 e 4** é possível que você experimente algum desconforto, principalmente relacionado a fadiga e cansaço.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal_____

Pesquisador Responsável_____

Orientador_____ Orientado_____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

Todas as medidas de precaução para a sua segurança serão realizadas, portanto, os locais dos testes serão acessíveis, salas amplas bem iluminadas e ventiladas e com banheiros adaptados. Todos os equipamentos utilizados serão testados, calibrados e esterelizados (quando necessário) conforme as instruções de cada equipamento. Apesar de todos os cuidados que serão tomados, alguns riscos relacionados ao estudo podem ser:

- certo desconforto e tontura, hipoglicemia e desmaio que podem ocorrer devido ao jejum.
- a ocorrência de hematoma no membro superior após coleta de sangue.
- dor muscular tardia que poderá ocorrer após os testes de mensuração de capacidade aeróbia e força muscular de membros superiores.
- certo desconforto e tontura com a realização dos testes pulmonares.
- claustrofobia (ansiedade e agitação causada pelo medo de ficar deitado no túnel que faz parte do equipamento de ressonância magnética).
- quedas, contusões, torções podem ocorrer nas transferências da cadeira para a maca em alguns testes, porém esta probabilidade será diminuída com uma maca baixa, da altura da cadeira de rodas, para facilitar as transferências e pela ajuda dos profissionais que estarão a disposição.

Todos os testes serão realizados por profissionais com experiência nas técnicas realizadas. Além disto, em cada dia de avaliação o médico e um profissional da área de saúde (fisioterapeuta, enfermeiro, educador físico) com experiência em primeiros socorros estará acompanhando você para prestar qualquer tipo de auxílio que seja necessário. Os locais onde as avaliações serão realizadas também tem a infraestrutura necessária para prestação de primeiros socorros e se necessário transporte para hospitais.

Os benefícios esperados com essa pesquisa são primeiramente, verificar o impacto da lesão medular na saúde geral do indivíduo levando em conta, o aspecto imunitário, a qualidade neuromuscular e osteoarticular, bem como os sistemas cardiovascular, respiratório e metabólico. A seguir, pretende-se avaliar se existem e quais são as diferenças da saúde dos indivíduos com lesão medular que praticam atividade física regular e os que são considerados sedentários, com esta comparação pode-se verificar se existe, e qual a magnitude do efeito benéfico da atividade física em indivíduos com lesão medular, além de analisar se diferenças nos exercícios como volume, intensidade e tipo de atividade física interferem nos ganhos que se tem com a prática regular do mesmo. Ainda, com a suplementação com óleo de peixe procura-se averiguar e quantificar se existe melhora na saúde, bem como se estas são encontradas tanto nos participantes sedentários quanto nos que praticam atividade física regular.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

Com os resultados gerados neste estudo, espera-se obter e aprofundar conhecimentos sobre as complicações de saúde que ocorrem em indivíduos com lesão medular, visando contribuir com estratégias preventivas e tratamentos para esta população e para usuários do SUS. Portanto, além de você ser beneficiado com o resultado da pesquisa, poderá contribuir para o avanço científico.

Os pesquisadores Aldre Izabel Pchevozniki Tanhoffer, doutoranda da Universidade Federal do Paraná e fisioterapeuta, (contato: (41) 3361-1784, (41) 9918-1155, e-mail aldretan@gmail.com), e Ricardo Antonio Tanhoffer, pós-doutorando da Universidade Federal do Paraná e educador físico, (contato: (41) 3361-178, 9918-8040, e-mail ricardo.tanhoffer@gmail.com) responsáveis pelas entrevistas e avaliações, poderão ser contatados para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas e discutidas por pessoas autorizadas (orientador e coordenador do estudo Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes, pesquisadores et al do estudo Profa. Dra. Kátia Naliwaiko, Profa. Dra. Neiva Leite, Prof. Dr. Ricardo Yamazaki, Prof. Dr. Oslei de Matos, Dr. Ricardo Antonio Tanhoffer e pelo médico e colaborador do estudo Prof. Dr. Rogério de Fraga) e por autoridades legais. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a **sua identidade seja preservada e seja mantida a confidencialidade**. Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

As despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames, lanches e cápsulas de Óleo de Peixe) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal_____

Pesquisador Responsável_____

Orientador_____Orientado_____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

Eu, _____ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi a respeito dos testes e intervenções as quais serei submetido, menciona os riscos e benefícios destes. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo intitulado **Efeitos da suplementação com óleo de peixe e prática de atividade física regular sobre doenças crônicas não transmissíveis em indivíduos com lesão medular.**

(Assinatura do sujeito de pesquisa ou responsável legal)

Local e data

Assinatura do Pesquisador

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR

Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXOS



ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE PEIXE E PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA REGULAR SOBRE DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS EM INDIVÍDUOS COM LESÃO MEDULAR.

Pesquisador: Luiz Claudio Fernandes

Área Temática:

Versão: 7

CAAE: 17972013.4.0000.0102

Instituição Proponente: Programa de Pós-Graduação em Educação Física

Patrocinador Principal: Programa de Pós-Graduação em Educação Física

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 969.207

Data da Relatoria: 21/12/2014

Apresentação do Projeto:

Lesão da medula espinhal produz interrupção do estímulo neural através do canal medular tendo como principal consequência perda das funções do sistema nervoso somático e autonômico [1]. Etiologicamente, a lesão medular (LM) é dividida em lesões não traumáticas, ou seja, quando causada por desordens vasculares, doenças degenerativas, infecções virais ou bacterianas, malformações e diversos tipos de tumores; e em lesões traumáticas, que são aquelas provocadas por fraturas e/ou luxações que podem ocorrer em acidentes de trânsito, esportes e lazer, quedas e acidentes de trabalho e por ferimentos de armas de fogo (FAF) ou armas brancas. Atualmente, o maior número de incidências de LM é causado por trauma, reflexo da crescente violência, principalmente nos grandes centros urbanos [2, 3]. Tanto a paralisia de grande parte da parte da musculatura como o comprometimento do sistema nervoso autônomo devido ao trauma raquimedular, induzem essa população a um dos mais baixos níveis de atividade física (AF) dentre populações especiais [4]. A associação destes fatores direcionam à uma série de patologias secundárias, que se encaixam no perfil das patologias conhecidas como Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs) - como a síndrome metabólica, disfunção imunitária e quadros severos de

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2ª andar

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Continuação do Parecer: 969.207

osteoporose [5-8], reduzindo drasticamente a qualidade de vida e longevidade desses indivíduos e onerando o sistema de saúde. De fato, segundo o Ministério da Saúde, as DCNTs são responsáveis por 72% das causas de morte no Brasil e de 75% dos gastos com atenção à saúde no Sistema Único de Saúde (SUS). Por outro lado, a aplicação de exercícios físicos exerce importante papel na composição corporal [9-13], metabolismo de glicose e lipídeos [5, 11, 12, 14], marcadores inflamatórios [12] e ainda na saúde osteoarticular de pessoas com LM. Além disto, apesar da importante influência da suplementação ácidos graxos poliinsaturados da família ômega 3 (AGPIs n-3) na saúde geral de um indivíduo já demonstrada em hígidos e em indivíduos com diversas patologias, poucos são os estudos que tenham observado suas ações sobre essa população. Portanto, a pesquisa em questão visa investigar o efeito da AF e da suplementação alimentar com cápsula de óleo de peixe (OP) sobre a função dos sistemas neuromuscular, imunitário, osteoarticular, metabólico, cardiovascular e respiratório de indivíduos com LM. O estudo será desenvolvido no Laboratório de Metabolismo Celular e nas dependências do departamento de Educação Física da Universidade Federal do Paraná (UFPR), bem como no Centro Hospitalar de Reabilitação Ana Carolina Moura Xavier. Mensurações metabólicas e fisiológicas, além de uma série de avaliações físicas e questionários para a verificação do nível de AF, do estado nutricional e frequência alimentar e da percepção de qualidade de vida serão realizados em indivíduos do gênero masculino, moradores de Curitiba e Região Metropolitana, entre 18 e 50 anos, com LM completa ou incompleta, de qualquer nível neurológico, com mais de 1 ano de lesão, sedentários ou praticantes de AF regular (basquetebol, rugby em cadeira de rodas, esgrima, bocha, canoagem, natação). Em conclusão, o foco principal deste estudo é aprofundar a compreensão sobre as fisiopatologias desencadeadoras de várias Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs), decorrentes dos processos degenerativos secundários aos distúrbios neuro-locomotores, e bastante comuns em pessoas com lesão medular. Dessa forma, os resultados aqui obtidos irão gerar importante produção de conhecimento sobre o tema, e assim contribuir para o desenvolvimento de estratégias visando a prevenção e o tratamento de DCNTs na população com lesão medular, beneficiando diretamente os usuários do Sistema Único de Saúde.

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2ª andar

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Continuação do Parecer: 969.207

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Este estudo objetiva investigar o efeito da AF e da suplementação alimentar com cápsula de OP na saúde geral do indivíduo após LM, principalmente sobre a alta incidência de DCNTs nessa população. Para tanto, os efeitos da prática de atividade física regular, bem como da suplementação com OP sobre a função dos sistemas neuromuscular, imunitário, osteoarticular, metabólico, cardiovascular e respiratório de indivíduos com LM serão investigados

Objetivo Secundário:

Os efeitos da AF e da suplementação alimentar com cápsula de OP, bem como a associação dos mesmos serão verificados sobre:

1. Sistema Neuromuscular - capacidade de produção de força (pico e taxa de desenvolvimento de torque).- parâmetros de recrutamento muscular (ativação muscular - EMG, atraso eletromecânico EMD e velocidade de condução nervosa- VCN). - funcionalidade (habilidade de manter a posição ortostática, levantar da cadeira, realizar transferências), mensurada por questionários e escalas de funcionalidade.
2. Sistema Imunitário e ensaios bioquímicos - parâmetros imunitários inato; nos neutrófilos - (capacidade fagocítica, produção de peróxido de hidrogênio, ânion superóxido e retenção lisossomal). - parâmetros imunitários adquiridos; em linfócitos sanguíneos - (populações de linfócitos CD4 e CD8). - marcadores inflamatórios em linfócitos (IL-2, IL-4, IL-6, IL10, TNF- α e IFN γ). - parâmetros bioquímicos plasmáticos (glicose, lactato, triacilglicerol e colesterol). - concentração plasmática do aminoácido glutamina
3. Sistema Osteoarticular - expressão de PGE2 circulante. - marcadores de formação óssea (osteocalcina, pró-colágeno Tipo I). - marcadores de reabsorção óssea (piridolina e deoxipiridolina). - análise da densidade mineral óssea através da densitometria óssea
4. Avaliações fisiológicas e capacidade física - taxa metabólica metabólica basal. - ingesta calórica (recordatório alimentar) - nível de AF - pressão arterial - nível de esforço durante AF
5. Composição corporal e perfil lipídico - massa corporal - composição corporal - gordura subcutânea - gordura visceral - gordura hepática - triglicerídeo hepático - lipídeos intramiocelular
6. Sistema Cardiorrespiratório e circulatório - espessura da carótida - avaliação cardiorrespiratória - avaliação pulmonar - inflamação pulmonar - broncoespasmo induzido pelo exercício (BIE) - avaliação de sintomas de doenças alérgicas Além das variáveis acima descritas,

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2ª andar

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Continuação do Parecer: 969.207

serão utilizados questionários para determinação da qualidade de vida dos voluntários.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Todos contemplados

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é pertinente, tem relevância social e está em conformidade com a Resolução 466 de 12/12/2012.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

todos contemplados

Recomendações:

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais e final, sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO. Demais alterações e prorrogação de prazo devem ser enviadas no modo EMENDA. Lembrando que o cronograma de execução da pesquisa deve ser atualizado no sistema Plataforma Brasil antes de enviar solicitação de prorrogação de prazo

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

- É obrigatório retirar na secretaria do CEP/SD uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com carimbo onde constará data de aprovação por este CEP/SD, sendo este modelo reproduzido para aplicar junto ao participante da pesquisa.

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011 CONEP/CNS).

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2ª andar

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Continuação do Parecer: 969.207

Considerações Finais a critério do CEP:

CURITIBA, 02 de Março de 2015

Assinado por:
IDA CRISTINA GUBERT
(Coordenador)

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2ª andar

UF: PR

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO 3

PROTOCOLO PARA AVALIAÇÃO DE PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

SOLUÇÕES

Hexano, Metanol, Clorifórmio: não há preparação.

HCl (1 M):

Pipetar com uma pera e uma pipeta de 10 mL ou com pipeta P5.000 8,26 mL de HCl (nº 6 – solventes)

Adicionar este volume em 91,74 mL de água ultrapura

Atenção: Colocar um pouco da água num balão volumétrico, adicionar o HCl (fazer nesta ordem porque o ácido gera calor e pode “explodir”), depois completar com água para 100 mL (usar pipeta para as gotas finais deixando o menisco sobre a marcação do balão).

Pode-se também colocar 90mL de água destilada em uma proveta + 1740 microlitros com pipeta e completar com HCL até 100ml. Fazer isto dentro da estufa.

Solução de Folch para 100 mL:

3,06 mL de clorofórmio

47,95 mL de metanol MeOH

48,97 mL de água ultrapura - água MQ

NaHO (0,5 M em 90% de MeOH - metanol):

Pesar 2 g de Hidróxido de Sódio (NaOH) (não usar materiais de auxílio de metais, pois o hidróxido de sódio corrói o metal)

Diluir em 10 mL de água ultrapura

Colocar no agitador magnético

Adicionar 90 mL de metanol

Phosphato buffered saline modificado pela ausência de Ca e Mg

PBS (1L – pH 7,4) TAMPÃO FOSFATO-SALINO

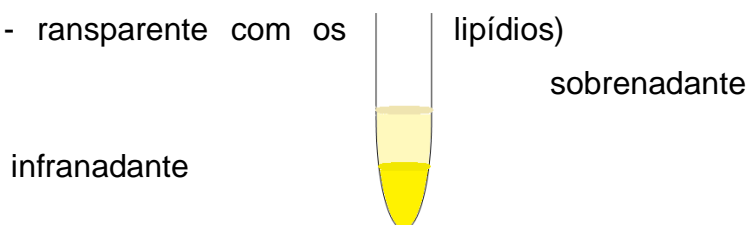
Reagente	1L	2L	2,5L
NaCl 136,8mM	8g	16g	20g
KCl	0,2g	0,4g	0,5g
KH ₂ PO ₄ (fosfato de potássio monofásico)	0,12g	0,24g	0,30g
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	2,29g	4,58g	5,725g
H ₂ O milliq.	Qsp	Qsp	qsp

– - Usar 2,29g de Na₂HPO₄.12H₂O ou 1,139g de Na₂HPO₄.2H₂O ou (p/ 1L)

EXTRAÇÃO LIPÍDICA PARA CROMATOGRAFIA

FOLCH *et al.* (1956)

1. Pegar o microtubo com plasma congelado no -80°C e deixá-lo num recipiente com gelo triturado até descongelar toda a amostra;
2. Separar quatro tubos de ensaio de vidro para cada amostra a ser analisada em um rack e identificá-los: “1 – 1º”, “2 – 1º”, “1’ – 2º”, “2’ – 2º” ...;
3. Pipetar 100 μL de cada amostra no tubo correspondente (se for amostra for o óleo de peixe, coletar 20 μL com uma seringa diretamente da cápsula);
4. Adicionar 1,33 mL (1.330 μL) de clorofórmio/metanol (2:1) $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ – preservando os lipídios numa fase orgânica e precipitando proteínas numa fase metanólica; pode colocar o clorofórmio/metanol em todos os tubos e depois ir para o vórtex;
5. Agitar os tubos em vórtex ou homogeneizar dando petelecos; não precisa ser por muito tempo
6. Adicionar 0,240 mL (240 μL) de metanol (álcool metílico - CH_3OH).
7. Agitar os tubos em vórtex ou homogeneizar dando petelecos;
8. Centrifugar a 5.000 g por 10 minutos a Tamb na centrífuga da BioCel 9acel 9 desacel (clorofórmio vai ficar em embaixo com as proteínas e o metanol em cima - ransparente com os lipídios)

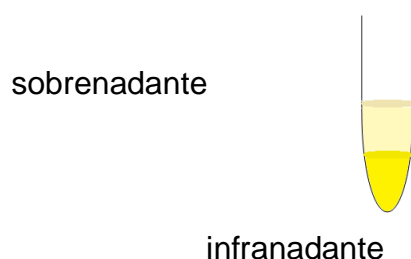


9. Transferir o sobrenadante (fase superior) para o outro tubo previamente identificado; Não transferir o infranadante, pois são proteínas.
10. Adicionar neste tubo com a fase superior transferida, 480 μL de clorofórmio (CHCl_3)
11. Adicionar 0,410 mL (410 μL) de água destilada (a relação sobrenadante/infranadante é de 40/60);
12. Agitar levemente os tubos com movimentos circulares até o conteúdo do tubo ficar esbranquiçado;

13. Esperar 10 min para reconstituir o sistema bifásico espontaneamente (não demora tudo isso, o importante é esperar o tempo suficiente para que as duas camadas estejam bem formadas)
14. Lavar 3 X com a solução de Folch ou FSP (Fase Superior Pura Suplementada):
 - a. Colocar 1 mL de solução de Folch (escorrer lentamente pela parede do tubo); [OBS 1: adicionar FSP lentamente pelas paredes do tubo e agitar com movimentos suaves circulares, para não misturar as duas fases. O objetivo destas lavagens é apenas “limpar” a interface das duas fases. Verificar se há necessidade de centrifugar a cada lavagem. OBS 2: Após adicionar a FSP e agitar suavemente os tubos, retirar o sobrenadante cuidadosamente com a pipeta e desprezar. Na última retirada de sobrenadante, retirar também um pouco da fase inferior e observar na ponteira a formação de duas fases – retornar ao tubo a fase inferior da ponteira (fase metanólica) e desprezar a fase superior (fase aquosa) (macete passado pela prof. Katya)]
 - b. Espera reconstituir;
 - c. Descartar o sobrenadante (hidrometanólica);
15. O tubo contendo o infranadante (fase orgânica) deverá ser evaporado em fluxo de nitrogênio gasoso em banho maria a 37°C em torno de 20 min;
 - a. Pegar a chave do LabCentral;
 - b. Levar a rack cinza e o “Frankenstein”;
 - c. Arrumar os tubos na rack de forma que o todos recebam o nitrogênio (N₂) dentro;
 - d. Colocar no banho maria;
 - e. Ligar na extensão (não tem botão de liga e desliga);
 - f. Posicionar a mangueira do nitrogênio no “Frank”;
 - g. Ligar o registro do cilindro de N₂;
 - h. Conferir se o pino do manômetro está na marcação verde;
 - i. E ligar o registro do N₂ no fluxo (registro de baixo);
 - j. Aguardar até a secagem completa do líquido dos tubos;
16. Os tubos secos (embrulhar bem em papel filme – nos dois sentidos) e deverão ser armazenados em freezer (-20°C) até a saponificação.

SAPONIFICAÇÃO DOS EXTRATOS LIPÍDICOS

1. Ligar o banho maria com agitador para ir aquecendo;
2. Identificar novos tubos (um para cada tubo que foram extraídos os lipídios);
3. Resuspender os extratos lipídicos obtidos da amostra avaliada, bem como as alíquotas de óleo de peixe (que foram previamente evaporados no N_2) em 100 μ L de metanol;
4. Adicionar 2.000 μ L (2ml) de uma solução de NaOH;
5. Homogeneizar em vórtex por 1 min cada tubo;
6. Unir 4 a 5 tubos com elástico de dinheiro e colocar em banho maria com agitação a 37°C por 2 horas para incubação;
7. Esfriar as amostras (colocar a rack em geladeira ou em banho de gelo com isopor e gelo triturado);
8. Acidificar a solução alcalina até aproximadamente pH 3,0, com 1.500 μ L (1,5ml) de ácido clorídrico 1M (HCl);
9. Checar o pH:
 - a. Usar as fitas para medir pH conforme a cor (é esperado que fique mais próximo do vermelho – checar a curva de cores da fita utilizada);
10. Extrair 3 vezes os ácidos graxos:
 - a. Adicionar as amostras 1.000 μ L (1ml) de hexano ou éter de petróleo;
 - b. Homogeneizar em vórtex;



- c. Coletar o hexano, sobrenadante (com pipeta P1.000) e colocar em um novo tubo previamente identificado (das 3 repetições deverão ser colocados juntos);
11. Evaporar o solvente (hexano) com fluxo de N_2 em nitrogênio gasoso em banho maria a temperatura de 37°C;
12. Acondicionar os tubos em freezer (-20°C) vedados com parafilm e envolvidos em papel alumínio (protegidos da luz), devidamente numerados exteriormente, até a derivatização com BMMC.

PREPARO PARA SOLUÇÕES PARA DERIVATIZAÇÃO

1. Preparar Reagente A adicionando-se 10 mg de BMMC em 10mL de acetonitrila;
2. Preparar Reagente B adicionando-se 26,5 mg de 18-crown-6 em 5 mL de acetonitrila;
3. Depois add 100mg de carbonato de potássio e 50 μ L de água;
4. Sonicar por 30 minutos o Reagente B;
5. Adicionar 5 mL de acetonitrila;
6. Deixa descansar por 20 min;
7. Separar o sobrenadante (pipetando) do precipitado (uma casca no fundo do Becker);
8. Estocar a solução 4-8°C (protegido da luz);

DERIVATIZAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Baseada no método descrito por Abushufa *et al.* (1994).

1. Reconstituir as amostras contendo ácidos graxos a serem derivatizados em 100 μ L de acetonitrila;
2. Homogeneizar as amostras em vórtex (± 30 s);
3. Adicionar 100 μ L do Reagente A, e 100 μ L do Reagente B;
4. Homogeneizar as amostras novamente (vórtex);
5. Incubar a 60°C em estufa por 15 minutos;
6. Adicionar 100 μ L de acetonitrila;
7. Transferir para frascos apropriados para injeção (vials);

ANÁLISE DE ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA POTÊNCIA.

1. Injetar as amostras em um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Potência (HPLC; Varian, modelo LC-10^a) com detector de fluorescência (325 nm de excitação e 395 nm de emissão);
2. Utilizar coluna analítica C-8 de fase reversa (25 cm x 4,6 mm i.d., 5 µm de partícula poro de saída 100Å), com um fluxo de 1mL/min de acetonitrila/água (73:23, vol/vol) para a separação dos ácidos graxos derivatizados;
8. Obter a mistura de padrões de ácidos graxos da empresa Sigma-Aldrich.
9. Realizar injeções de volumes que variaram de 20 dos derivados diluídos, com fluxo foi de 1,0mL/minuto, à temperatura controlada de 23°C;
10. Detectar os compostos fluorimetricamente com excitação a 325nm e emissão a 398nm;
11. Na fase móvel, realizar gradiente binário com acetonitrila e água, iniciando com a proporção de 77:23% (acetonitrila:água) e finalizando com 90:10, em um total de 55 minutos.
12. Expressar dados em gramas de ácidos graxos/100g de lipídios totais (valor será em %).